

(12) NACH DEM VERTRÄGE ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

**(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro**



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
25. März 2004 (25.03.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/024932 A2

525674

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12P 13/04,
13/12

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/009452

(22) Internationales Anmeldedatum:
26. August 2003 (26.08.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität: 102 39 073.8 26. August 2002 (26.08.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; 67056 Ludwigshafen (DE).

(72) **Erfinder; und**
(75) **Erfinder/Anmelder (nur für US): KRÖGER, Burkhard**
[DE/DE]; Im Waldhof 1, 67117 Limburgerhof (DE).
ZELDER, Oskar [DE/DE]; Franz-Stützel-Str. 8, 67346
Speyer (DE). **KLOPPROGGE, Corinna** [DE/DE];
Rastatter Str. 10, 68239 Mannheim (DE). **SCHRÖDER,**
Hartwig [DE/DE]; Benzstr. 4, 69226 Nussloch (DE).
HÄFNER, Stefan [DE/DE]; Luitpoldstr. 11, 67063
Ludwigshafen (DE).

(74) Anwalt: **KINZEBACH**, Werner; Reitstötter, Kinzebach & Partner (GbR), Sternwartstr. 4, 81679 München (DE).

(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR ZYMOtic PRODUCTION OF FINE CHEMICALS (META) CONTAINING SULPHUR
(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR FERMENTATIVEN HERSTELLUNG SCHWEFELHALTIGER FEINCHEMIKALIEN
(META)

The diagram illustrates the map of the *pC lysC* plasmid. The plasmid is circular and contains several genes and restriction enzyme sites. Key features include:

- Genes:** *sacB* (Bacillus subtilis), *lysC*, *ask*, and *lysR*.
- Restriction Enzyme Sites:** StuI (5849), AaiI (5849), XbaI (5841), Nod (5823), ApoI (3), Acc65I (5), Asp718 (5), SstI (515), AaiI (515), ClaI (4997), KspAI (4766), HpaI (4766), ClaI (4660), Asp718 (4295), Acc65I (4295), KspAI (3944), HpaI (3944), Nod (3906), Ori-EC (pMB), NheI (2940), MluI (11), XbaI (305), NcoI (400), BglII (1048), PstI (629), BglII (1126), HindIII (1137), EcoRI (1577), SalI (1583), ClaI (1590), BamHI (1620), XbaI (1626), SmaI (1634), NheI (1647), BglII (1939), PstI (2156), and NcoI (2535).
- Regions:** The *sacB* gene is located on the left side of the plasmid. The *sacB* downstreambereich is indicated by a bracket below the plasmid map.
- Arrows:** Arrows indicate the direction of transcription for the *sacB* gene and the *lysC* gene.
- Labels:** The label "1... DOWNSTREAM REGION" is located at the bottom left of the diagram.

(57) Abstract: The invention relates to methods for the zymotic production of fine chemicals, especially L-methionine, containing sulphur using bacteria, wherein a nucleotide sequence coding for a methionine-synthase (methA)-gene is expressed.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verfahren zur fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, unter Verwendung von Bakterien, in denen eine für ein Methionin-Synthase (methA)-Gen kodierende Nukleotidsequenz exprimiert wird.

WO 2004/024932 A2

Best Available Copy



KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,

VERFAHREN ZUR FERMENTATIVEN HERSTELLUNG SCHWEFELHALTIGER FEINCHEMIKALIEN (META)

Beschreibung

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, unter Verwendung von Bakterien, in denen eine für 5 ein Homoserin-O-Acetyl-Transferase (metA)-Gen kodierende Nukleotidsequenz exprimiert wird.

Stand der Technik

Schwefelhaltige Feinchemikalien, wie zum Beispiel Methionin, Homocystein, S-Adenosyl-10 Methionin, Glutathion, Cystein, Biotin, Thiamin, Liponsäure werden über natürliche Stoffwechselprozesse in Zellen hergestellt und werden in vielen Industriezweigen verwendet, einschließlich der Nahrungsmittel-, Futtermittel-, Kosmetik- und pharmazeutischen Industrie. Diese Substanzen, die zusammen als "schwefelhaltige Feinchemikalien" bezeichnet werden, umfassen organische Säuren, sowohl proteinogene als auch nicht-proteinogene Aminosäuren, Vitamine 15 und Cofaktoren. Ihre Produktion erfolgt am zweckmäßigsten im Großmaßstab mittels Anzucht von Bakterien, die entwickelt wurden, um große Mengen der jeweils gewünschten Substanz zu produzieren und sezernieren. Für diesen Zweck besonders geeignete Organismen sind coryneforme Bakterien, gram-positive nicht-pathogene Bakterien.

20 Es ist bekannt, dass Aminosäuren durch Fermentation von Stämmen coryneformer Bakterien, insbesondere *Corynebacterium glutamicum*, hergestellt werden. Wegen der großen Bedeutung wird ständig an der Verbesserung der Herstellverfahren gearbeitet. Verfahrensverbesserungen können fermentationstechnische Maßnahmen, wie zum Beispiel Rührung und Versorgung mit Sauerstoff, oder die Zusammensetzung der Nährmedien, wie zum Beispiel die Zuckerkonzentration während der Fermentation, oder die Aufarbeitung zum Produkt, beispielsweise durch Ionenaustrauschchromatographie, oder die intrinsischen Leistungseigenschaften des Mikroorganismus selbst betreffen.

Über Stammselektion sind eine Reihe von Mutantenstämmen entwickelt worden, die ein Sortiment 30 wünschenswerter Verbindungen aus der Reihe der schwefelhaltigen Feinchemikalien produzieren. Zur Verbesserung der Leistungseigenschaften dieser Mikroorganismen hinsichtlich der Produktion eines bestimmten Moleküls werden Methoden der Mutagenese, Selektion und Mutantenauswahl angewendet. Dies ist jedoch ein zeitaufwendiges und schwieriges Verfahren. Auf diese Weise erhält man z.B. Stämme, die resistent gegen Antimetabolite, wie z. B. die Methionin-Analoga α-Methyl-Methionin, Ethionin, Norleucin, N-Acetylnorleucin, S-35 Trifluoromethylhomocystein, 2-Amino-5-heptenoitsäure, Seleno-Methionin, Methioninsulfoximin,

Methoxin, 1-Aminocyclopantan-Carboxylsäure oder auxotroph für regulatorisch bedeutsame Metabolite sind und schwefelhaltige Feinchemikalien, wie z. B. L-Methionin, produzieren.

Seit einigen Jahren werden ebenfalls Methoden der rekombinanten DNA-Technik zur Stamm-
5 verbesserung von L-Aminosäure produzierender Stämme von *Corynebacterium* eingesetzt, in-
dem man einzelne Aminosäure-Biosynthesegene amplifiziert und die Auswirkung auf die Amino-
säure-Produktion untersucht.

Kurze Beschreibung der Erfindung

10

Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, ein neues Verfahren zur verbesserten fermentativen Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, bereitzustellen.

15

Gelöst wird obige Aufgabe durch Bereitstellung eines Verfahrens zur fermentativen Herstellung einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, umfassend die Expression einer heterologen Nukleotid-sequenz, welche für ein Protein mit metA-Aktivität kodiert, in einem coryneformen Bakterium.

Ein erster Gegenstand der Erfindung ist Verfahren zur fermentativen Herstellung wenigstens einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, welches folgende Schritte umfasst:

20

- a) Fermentation einer die gewünschte schwefelhaltige Feinchemikalie produzierenden coryneformen Bakterienkultur, wobei in den coryneformen Bakterien zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz exprimiert wird, welche für ein Protein mit Homoserin-O-Acetyl-Transferase (metA) –Aktivität kodiert;
- b) Anreicherung der schwefelhaltigen Feinchemikalie im Medium oder in den Zellen der Bakterien, und
- c) Isolieren der schwefelhaltigen Feinchemikalie, welche vorzugsweise L-Methionin umfasst.

25

Vorzugsweise besitzt obige heterologe metA-kodierende Nukleotidsequenz zur metA-kodierenden Sequenz aus *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 eine Sequenzhomologie von weniger als 100% und vorzugsweise von mehr als 70% aufweist. Die metA-kodierende Sequenz ist vorzugsweise aus einem der folgenden Organismen von Liste I abgeleitet:

35

Liste I

<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	ATCC 14779
<i>Mycobacterium leprae</i>	ATCC 43910
<i>Mycobacterium tuberculosis CDC1551</i>	ATCC 25584
<i>Chlorobium tepidum</i>	ATCC 49652
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 17933
<i>Caulobacter crescentus</i>	ATCC 19089
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 53420
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 53414
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525
<i>Burkholderia cepacia</i>	ATCC 25416
<i>Nitrosomonas europaea</i>	ATCC 19718
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 51907
<i>Halobacterium sp NRC1</i>	ATCC 33170
<i>Thermus thermophilus</i>	ATCC 27634
<i>Deinococcus radiodurans</i>	ATCC 13939
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 10751
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	ATCC 24969
<i>Xylella fastidiosa</i>	ATCC 35881
<i>Emericella nidulans</i>	ATCC 36104
<i>Mesorhizobium loti</i>	ATCC 35173
<i>Acremonium crysogenum</i>	ATCC 11550
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 47054
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 35556

ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA

5 Die erfindungsgemäß eingesetzte metA-kodierende Sequenz umfasst vorzugsweise eine kodierende Sequenz gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 und 45 oder eine dazu homologe Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metA-Aktivität kodiert.

10 Die erfindungsgemäß eingesetzte metA-kodierende Sequenz kodiert außerdem vorzugsweise für ein Protein mit metA-Aktivität, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 und 46 oder eine dazu homologe Aminosäuresequenz, welche für ein Protein mit metA-Aktivität steht, umfasst.

15 Die kodierende metA-Sequenz ist vorzugsweise eine in coryneformen Bakterien replizierbare oder eine stabil in das Chromosom integrierte DNA oder eine RNA.

20 Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird das erfindungsgemäße Verfahren durchgeführt, indem man

- a) einen mit einem Plasmidvektor transformierten Bakterienstamm einsetzt der wenigstens eine Kopie der kodierenden metA-Sequenz unter der Kontrolle regulativer Sequenzen trägt, oder
- b) einen Stamm einsetzt, in dem die kodierende metA-Sequenz in das Chromosom des Bakteriums integriert wurde

5

Es ist weiterhin bevorzugt, die kodierende metA-Sequenz für die Fermentation zu überexprimieren.

10 Außerdem kann es wünschenswert sein, Bakterien zu fermentieren, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verstärkt ist; und / oder

in denen wenigstens ein Stoffwechselweg zumindest teilweise ausgeschaltet sind, der die Bildung der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verringert.

15 Außerdem kann es wünschenswert sein, Bakterien zu fermentieren, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie durch Stoffwechselmetabolite in seiner Aktivität nicht in unerwünschter Weise beeinflusst wird.

20 Gemäß einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden deshalb coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- a) dem für eine Aspartatkinase kodierenden Gen lysC,
- b) dem für eine Aspartat-Semialdehyd-Dehydrogenase kodierenden Gen asd
- 25 c) dem für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierenden Gen gap,
- d) dem für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierenden Gen pgk,
- e) dem für die Pyruvat Carboxylase kodierenden Gen pyc,
- f) dem für die Triosephosphat Isomerase kodierenden Gen tpi,
- 30 g) dem für die Methionin Synthase kodierenden Gen methH,
- h) dem für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierenden Gen metB,
- i) dem für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierenden Gen metC,
- j) dem für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierenden Gen glyA,
- k) dem für die O-Acetylhomoserin-Sulphydrylase kodierenden Gen metY,
- 35 l) dem für die Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase kodierenden Gen, metF
- m) dem für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierenden Gen serC
- n) dem für die Phosphoserin-Phosphatase kodierenden Gen serB,

- o) dem für die Serine Acetyl-Transferase kodierenden Gen *cysE*,
- p) dem für die Homoserin-Dehydrogenase kodierenden Gen *hom*,

überexprimiert ist.

5 Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneformen Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene ausgewählt unter Genen der oben genannten Gruppe a) bis p) mutiert ist, so dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch Stoffwechselmetabolite in ihrer Aktivität beeinflusst werden und dass insbesondere die erfindungsgemäße

10 Produktion der Feinchemikalie nicht beeinträchtigt wird.

Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneformen Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- q) dem für die Homoserine-Kinase kodierenden Gen *thrB*,
- r) dem für die Threonin Dehydratase kodierenden Gen *ilvA*,
- s) dem für die Threonin Synthase kodierenden Gen *thrC*
- t) dem für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierenden Gen *ddh*
- u) dem für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierenden Gen *pck*,
- v) dem für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierenden Gen *pgi*,
- 20 w) dem für die Pyruvat-Oxidase kodierenden Gen *poxB*,
- x) dem für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierenden Gen *dapA*,
- y) dem für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierenden Gen *dapB*; oder
- z) dem für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierenden Gen *lysA*

abschwächt ist, insbesondere durch Verringerung der Expressionsrate des korrespondierenden
25 Gens.

Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneformen Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene der obigen Gruppen q) bis z) mutiert ist, so dass die enzymatische Aktivität des korrespondierenden Proteins teilweise oder vollständig verringert wird.

Vorzugsweise werden in dem erfindungsgemäßen Verfahren Mikroorganismen der Art *Corynebacterium glutamicum* eingesetzt.

35 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines L-Methioninhaltigen Tierfuttermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, welches folgende Schritte umfasst

- a) Kultivierung und Fermentation eines L-Methionin produzierenden Mikroorganismus in einem Fermentationsmedium;
- b) Entfernung von Wasser aus der L-Methionin haltigen Fermentationsbrühe;
- c) Entfernung der während der Fermentation gebildeten Biomasse in einer Menge von 0 bis 100 Gew.-%; und
- 5 d) Trocknung der gemäß b) und/oder c) erhaltenen Fermentationsbrühe, um das Tierfuttermittel-Additiv in der gewünschten Pulver- oder Granulatform zu erhalten.

10 Gegenstand der Erfindung sind ebenfalls die erstmalig aus obigen Mikroorganismen isolierten kodierenden metA-Sequenzen, die davon kodierten Homoserin-O-Acetyl-Transferase sowie die 15 funktionalen Homologen dieser Polynukleotide bzw. Proteine.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

15 a) Allgemeine Begriffe

Als Proteine mit der Aktivität der Homoserin-O-Acetyl-Transferase auch metA (EC 2.3.1.31) genannt, werden solche Proteine beschrieben, die in der Lage sind Homoserin und Acetyl-Co 20 EnzymA zu O-Acetyl-Homoserin umzusetzen. Der Fachmann unterscheidet die Aktivität der Homoserin-O-Acetyl-Transferase von der Homoserin-O-Succinyl-Transferase, die in der Literatur aber auch metA genannt wird. In dem letztgenannten Enzym dient Succinyl-Coenzym A und 25 nicht Acetyl-Coenzym A als Substrat der Reaktion. Der Fachmann kann die enzymatische Aktivität von Homoserin-O-Acetyl-Transferase durch Enzymtests nachweisen, Vorschriften dafür können sein: Park SD. Lee JY. Kim Y. Kim JH. Lee HS. *Molecules & Cells.* 8(3):286-94, 1998.

25 Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfasst der Begriff „schwefelhaltige Feinchemikalie“ jegliche chemische Verbindung, die wenigstens ein Schwefelatom kovalent gebunden enthält und durch ein erfindungsgemäßes Fermentationsverfahrens zugänglich ist. Nichtlimitierende Beispiele dafür sind Methionin, Homocystein, S-Adenosyl-Methionin, insbesondere Methionin, und S-Adenosyl-Methionin.

30 Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfassen die Begriffe „L-Methionin“, „Methionin“, Homocystein und S-Adenosylmethionin auch die korrespondierenden Salze, wie z. B. Methionin-Hydrochlorid oder Methionin-Sulfat.

"Polynukleotide" bezeichnet im allgemeinen Polyribonukleotide (RNA) und Polydeoxyribonukleotide (DNA), wobei es sich um nicht modifizierte RNA oder DNA oder modifizierte RNA oder DNA handeln kann.

5 Unter "Polypeptiden" versteht man erfindungsgemäß Peptide oder Proteine, die zwei oder mehr über Peptidbindungen verbundene Aminosäuren enthalten.

Der Begriff „Stoffwechselmetabolit“ bezeichnet chemische Verbindungen, die im Stoffwechsel von Organismen als Zwischen- oder auch Endprodukte vorkommen und die neben ihrer Eigenschaft als chemische Bausteine auch modulierende Wirkung auf Enzyme und ihre katalytische Aktivität haben können. Dabei ist aus der Literatur bekannt, dass solche Stoffwechselmetabolite sowohl hemmend als auch stimulierend auf die Aktivität von Enzymen wirken können (Biochemistry, Stryer, Lubert, 1995 W. H. Freeman & Company, New York, New York.). In der Literatur ist auch beschrieben, dass es möglich ist durch Maßnahmen wie Mutation der genomischen DNA durch UV-Strahlung, ionisierender Strahlung oder mutagene Substanzen und nachfolgender Selektion auf bestimmte Phänotypen in Organismen solche Enzyme zu produzieren, in denen die Beeinflussung durch Stoffwechselmetabolite verändert wurde (Sahm H. Eggeling L. de Graaf AA. Biological Chemistry 381(9-10):899-910, 2000; Eikmanns BJ. Eggeling L. Sahm H. Antonie van Leeuwenhoek. 64:145-63, 1993-94). Diese veränderten Eigenschaften können auch durch gezielte Maßnahmen erreicht werden. Dabei ist dem Fachmann bekannt, dass in Genen für Enzyme bestimmte Nukleotide der für das Protein kodierenden DNA gezielt verändert werden können, so dass das aus der exprimierten DNA-Sequenz resultierende Protein bestimmte neue Eigenschaften aufweist, so zum Beispiel, dass die modulierende Wirkung von Stoffwechselmetaboliten gegenüber dem nicht veränderten Protein verändert ist

25 Die Begriffe "exprimieren" bzw. "Verstärkung" oder „Überexpression“ beschreiben im Kontext der Erfindung die Produktion bzw. Erhöhung der intrazellulären Aktivität eines oder mehrerer Enzyme in einem Mikroorganismus, die durch die entsprechende DNA kodiert werden. Dazu kann man beispielsweise ein Gen in einen Organismus einbringen, ein vorhandenes Gen durch ein anderes Gen ersetzen, die Kopienzahl des Gens bzw. der Gene erhöhen, einen starken Promotor verwenden oder ein Gen verwenden, das für ein entsprechendes Enzym mit einer hohen Aktivität kodiert und man kann gegebenenfalls diese Maßnahmen kombinieren.

30 b) Erfindungsgemäß metA-Proteine

35 Erfindungsgemäß mit umfasst sind ebenfalls „funktionale Äquivalente“ der konkret offenbarten

metA-Enzyme aus Organismen obiger Liste I.

„Funktionale Äquivalente“ oder Analoga der konkret offenbarten Polypeptide sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung davon verschiedene Polypeptide, welche weiterhin die gewünschte 5 biologische Aktivität, wie z.B. Substratspezifität, besitzen.

Unter „funktionalen Äquivalenten“ versteht man erfindungsgemäß insbesondere Mutanten, welche in wenigstens einer der oben genannten Sequenzpositionen eine andere als die konkret 10 genannte Aminosäure aufweisen aber trotzdem eine der oben genannten biologischen Aktivitäten besitzen. „Funktionale Äquivalente“ umfassen somit die durch eine oder mehrere Aminosäure- 15 Additionen, -Substitutionen, -Deletionen und/oder -Inversionen erhältlichen Mutanten, wobei die genannten Veränderungen in jeglicher Sequenzposition auftreten können, solange sie zu einer Mutante mit dem erfindungsgemäßen Eigenschaftsprofil führen. Funktionale Äquivalenz ist insbesondere auch dann gegeben, wenn die Reaktivitätsmuster zwischen Mutante und unveränder- 20 tem Polypeptid qualitativ übereinstimmen, d.h. beispielsweise gleiche Substrate mit unterschied- licher Geschwindigkeit umgesetzt werden.

„Funktionale Äquivalente“ umfassen natürlich auch Polypeptide welche aus anderen Organis- 25 men zugänglich sind, sowie natürlich vorkommende Varianten. Beispielsweise lassen sich durch Sequenzvergleich Bereiche homologer Sequenzregionen festlegen und in Anlehnung an die konkreten Vorgaben der Erfindung äquivalente Enzyme ermitteln.

„Funktionale Äquivalente“ umfassen ebenfalls Fragmente, vorzugsweise einzelne Domänen oder 30 Sequenzmotive, der erfindungsgemäßen Polypeptide, welche z.B. die gewünschte biologische Funktion aufweisen.

„Funktionale Äquivalente“ sind außerdem Fusionsproteine, welche ein der oben genannten Polypeptidsequenzen oder davon abgeleitete funktionale Äquivalente und wenigstens eine weitere, davon funktionell verschiedene, heterologe Sequenz in funktioneller N- oder C-terminaler Ver- 35 knüpfung (d.h. ohne gegenseitigen wesentliche funktionelle Beeinträchtigung der Fusionsprote- intelle) aufweisen. Nichtlimitierende Beispiele für derartige heterologe Sequenzen sind z.B. Signalpeptide, Enzyme, Immunoglobuline, Oberflächenantigene, Rezeptoren oder Rezeptorligan- den.

Erfindungsgemäß mit umfasste „funktionale Äquivalente“ sind Homologe zu den konkret offen- 40 barten Proteinen. Diese besitzen wenigstens 20%, oder etwa 30%, 40%, 50 %, vorzugsweise

wenigstens etwa 60%, 65%, 70%, oder 75% ins besondere wenigsten 85%, wie z.B. 90%, 95% oder 99%, Homologie zu einer der konkret offenbarten Sequenzen, berechnet nach dem Algorithmus von Pearson und Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 85(8), 1988, 2444-2448.

- 5 Homologe der erfindungsgemäßen Proteine oder Polypeptide können durch Mutagenese erzeugt werden, z.B. durch Punktmutation oder Verkürzung des Proteins. Der Begriff "Homolog", wie er hier verwendet wird, betrifft eine variante Form des Proteins, die als Agonist oder Antagonist der Protein-Aktivität wirkt.
- 10 Homologe des erfindungsgemäßen Proteine können durch Screening kombinatorischer Banken von Mutanten, wie z.B. Verkürzungsmutanten, identifiziert werden. Beispielsweise kann eine variegierter Bank von Protein-Varianten durch kombinatorische Mutagenese auf Nukleinsäure-ebene erzeugt werden, wie z.B. durch enzymatisches Ligieren eines Gemisches synthetischer Oligonukleotide. Es gibt eine Vielzahl von Verfahren, die zur Herstellung von Banken potentieller
- 15 Homologer aus einer degenerierten Oligonukleotidsequenz verwendet werden können. Die chemische Synthese einer degenerierten Gensequenz kann in einem DNA-Syntheseautomaten durchgeführt werden, und das synthetische Gen kann dann in einen geeigneten Expressionsvektor ligiert werden. Die Verwendung eines degenerierten Gensatzes ermöglicht die Bereitstellung sämtlicher Sequenzen in einem Gemisch, die den gewünschten Satz an potentiellen Protei-
- 20 nsequenzen codieren. Verfahren zur Synthese degenerierter Oligonukleotide sind dem Fachmann bekannt (Z.B. Narang, S.A. (1983) Tetrahedron 39:3; Itakura et al. (1984) Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakura et al., (1984) Science 198:1056; Ike et al. (1983) Nucleic Acids Res. 11:477).
- 25 Zusätzlich können Banken von Fragmenten des Protein-Codons verwendet werden, um eine variegierter Population von Protein-Fragmenten zum Screening und zur anschließenden Selektion von Homologen eines erfindungsgemäßen Proteins zu erzeugen. Bei einer Ausführungsform kann eine Bank von kodierenden Sequenzfragmenten durch Behandeln eines doppelsträngigen PCR-Fragmentes einer kodierenden Sequenz mit einer Nuklease unter Bedingungen, unter denen ein Nicking nur etwa einmal pro Molekül erfolgt, Denaturieren der doppelsträngigen DNA, Renaturieren der DNA unter Bildung doppelsträngiger DNA, die Sense-/Antisense-Paare von verschiedenen genickten Produkten umfassen kann, Entfernen einzelsträngiger Abschnitte aus neu gebildeten Dupliziten durch Behandlung mit S1-Nuclease und Ligieren der resultierenden Fragmentbank in einen Expressionsvektor erzeugt werden. Durch dieses Verfahren kann eine
- 30 Expressionsbank hergeleitet werden, die N-terminale, C-terminale und interne Fragmente mit verschiedenen Größen des erfindungsgemäßen Proteins kodiert.
- 35

Im Stand der Technik sind mehrere Techniken zum Screening von Genprodukten kombinatorischer Banken, die durch Punktmutationen oder Verkürzung hergestellt worden sind, und zum Screening von DNA-Banken auf Genprodukte mit einer ausgewählten Eigenschaft bekannt. Diese Techniken lassen sich an das schnelle Screening der Genbanken anpassen, die durch kombinatorische Mutagenese erfindungsgemäßer Homologer erzeugt worden sind. Die am häufigsten verwendeten Techniken zum Screening großer Genbanken, die einer Analyse mit hohem Durchsatz unterliegen, umfassen das Klonieren der Genbank in replizierbare Expressionsvektoren, Transformieren der geeigneten Zellen mit der resultierenden Vektorenbank und Exprimieren der kombinatorischen Gene unter Bedingungen, unter denen der Nachweis der gewünschten Aktivität die Isolation des Vektors, der das Gen codiert, dessen Produkt nachgewiesen wurde, erleichtert. Recursive-Ensemble-Mutagenese (REM), eine Technik, die die Häufigkeit funktioneller Mutanten in den Banken vergrößert, kann in Kombination mit den Screeningtests verwendet werden, um Homologe zu identifizieren (Arkin und Yourvan (1992) PNAS 89:7811-7815; Delgrave et al. (1993) Protein Engineering 6(3):327-331

c) Erfindungsgemäße Polynukleotide

Gegenstand der Erfindung sind ebenso Nukleinsäuresequenzen (einzel- und doppelsträngige DNA- und RNA-Sequenzen, wie z.B. cDNA und mRNA), kodierend für eines der obigen metA-Enzyme und deren funktionalen Äquivalenten, welche z.B. auch unter Verwendung künstlicher Nukleotidanaloga zugänglich sind.

Die Erfindung betrifft sowohl isolierte Nukleinsäuremoleküle, welche für erfindungsgemäße Polypeptide bzw. Proteine oder biologisch aktive Abschnitte davon kodieren, sowie Nukleinsäurefragmente, die z.B. zur Verwendung als Hybridisierungssonden oder Primer zur Identifizierung oder Amplifizierung von erfindungsgemäßer kodierenden Nukleinsäuren verwendet werden können.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle können zudem untranslatierte Sequenzen vom 3'- und/oder 5'-Ende des kodierenden Genbereichs enthalten

Ein "isoliertes" Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure zugegen sind und kann überdies im wesentlichen frei von anderem zellulären Material oder Kulturmedium sein, wenn es durch rekombinante Techni-

ken hergestellt wird, oder frei von chemischen Vorstufen oder anderen Chemikalien sein, wenn es chemisch synthetisiert wird.

Die Erfindung umfasst weiterhin die zu den konkret beschriebenen Nukleotidsequenzen kom-

5 plementären Nukleinsäuremoleküle oder einen Abschnitt davon.

Die erfindungsgemäß Nukleotidsequenzen ermöglichen die Erzeugung von Sonden und Primern, die zur Identifizierung und/oder Klonierung von homologer Sequenzen in anderen Zelltypen und Organismen verwendbar sind. Solche Sonden bzw. Primer umfassen gewöhnlich einen 10 Nukleotidsequenzbereich, der unter stringenten Bedingungen an mindestens etwa 12, vorzugsweise mindestens etwa 25, wie z.B. etwa 40, 50 oder 75 aufeinanderfolgende Nukleotide eines Sense-Stranges einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz oder eines entsprechenden Antisense-Stranges hybridisiert.

15 Weitere erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenzen sind abgeleitet von SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 oder 45 und unterscheiden sich davon durch Addition, Substitution, Insertion oder Deletion einzelner oder mehrerer Nukleotide, 20 kodieren aber weiterhin für Polypeptide mit dem gewünschten Eigenschaftsprofil. Dies können Polynukleotide sein, die zu obigen Sequenzen in mindestens etwa 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 25 80% oder 90%, vorzugsweise in mindestens etwa 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% der Sequenzpositionen identisch sind.

Erfindungsgemäß umfasst sind auch solche Nukleinsäuresequenzen, die sogenannte stumme Mutationen umfassen oder entsprechend der Codon-Nutzung eins speziellen Ursprungs- oder 25 Wirtsorganismus, im Vergleich zu einer konkret genannten Sequenz verändert sind, ebenso wie natürlich vorkommende Varianten, wie z.B. Spleißvarianten oder Allelvarianten, davon. Gegengestand sind ebenso durch konservative Nukleotidsubstitutionen (d.h. die betreffende Aminosäure wird durch eine Aminosäure gleicher Ladung, Größe, Polarität und/oder Löslichkeit ersetzt) erhältliche Sequenzen.

30 Gegenstand der Erfindung sind auch die durch Sequenzpolymorphismen von den konkret offenen Nukleinsäuren abgeleiteten Moleküle. Diese genetischen Polymorphismen können zwischen Individuen innerhalb einer Population aufgrund der natürlichen Variation existieren. Diese natürlichen Variationen bewirken üblicherweise eine Varianz von 1 bis 5 % in der Nukleotidsequenz eines Gens.

Weiterhin umfasst die Erfindung auch Nukleinsäuresequenzen, welchen mit oben genannten kodierenden Sequenzen hybridisieren oder dazu komplementär sind. Diese Polynukleotide lassen sich bei Durchmusterung von genomischen oder cDNA-Banken auffinden und gegebenenfalls daraus mit geeigneten Primern mittels PCR vermehren und anschließend beispielsweise mit geeigneten Sonden isolieren. Eine weitere Möglichkeit bietet die Transformation geeigneter Mikroorganismen mit erfindungsgemäßen Polynukleotiden oder Vektoren, die Vermehrung der Mikroorganismen und damit der Polynukleotide und deren anschließende Isolierung. Darüber hinaus können erfindungsgemäße Polynukleotide auch auf chemischem Wege synthetisiert werden.

10 Unter der Eigenschaft, an Polynukleotide „hybridisieren“ zu können, versteht man die Fähigkeit eines Poly- oder Oligonukleotids unter stringenten Bedingungen an eine nahezu komplementäre Sequenz zu binden, während unter diesen Bedingungen unspezifische Bindungen zwischen nicht-komplementären Partnern unterbleiben. Dazu sollten die Sequenzen zu 70-100%, vorzugsweise zu 90-100%, komplementär sein. Die Eigenschaft komplementärer Sequenzen, spezifisch aneinander binden zu können, macht man sich beispielsweise in der Northern- oder Southern-Blot-Technik oder bei der Primerbindung in PCR oder RT-PCR zunutze. Üblicherweise werden dazu Oligonukleotide ab einer Länge von 30 Basenpaaren eingesetzt. Unter stringenten Bedingungen versteht man beispielsweise in der Northern-Blot-Technik die Verwendung einer 20 50 – 70 °C, vorzugsweise 60 – 65 °C warmen Waschlösung, beispielsweise 0,1x SSC-Puffer mit 0,1% SDS (20x SSC: 3M NaCl, 0,3M Na-Citrat, pH 7,0) zur Elution unspezifisch hybridisierter cDNA-Sonden oder Oligonukleotide. Dabei bleiben, wie oben erwähnt, nur in hohem Maße komplementäre Nukleinsäuren aneinander gebunden. Die Einstellung stringenter Bedingungen ist dem Fachmann bekannt und ist z.B. in Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, 25 John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. beschrieben.

d) Isolierung der kodierenden metA-Gene

Die für das Enzym Homoserin-O-Acetyl-Transferase codierenden metA-Gene aus den Organismen obiger Liste I sind in an sich bekannter Weise isolierbar.

Zur Isolierung der metA-Gene oder auch anderer Gene der Organismen aus obiger Liste I wird zunächst eine Genbank dieses Organismus in Escherichia coli (E. coli) angelegt. Das Anlegen von Genbanken ist in allgemein bekannten Lehrbüchern und Handbüchern ausführlich beschrieben. Als Beispiel seien das Lehrbuch von Winnacker: Gene und Klone, Eine Einführung in die Gentechnologie (Verlag Chemie, Weinheim, Deutschland, 1990), oder das Handbuch von

Sambrook et al.: Molecular Cloning, A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) genannt. Eine sehr bekannte Genbank ist die des *E. coli* Stammes W3110, die von Kohara et al. (Cell 50, 495-508 (1988)) in λ -Vektoren angelegt wurde.

5 Zur Herstellung einer Genbank von Organismen der Liste I in *E. coli* können Cosmide, wie der Cosmidvektor SuperCos I (Wahl et al., 1987, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 84: 2160-2164), aber auch Plasmide, wie pBR322 (BoliVal; Life Sciences, 25, 807-818 (1979)) oder pUC9 (Vieira et al., 1982, Gene, 19: 259-268), verwendet werden. Als Wirte eignen sich besonders solche *E. coli* Stämme, die restriktions- und rekombinationsdefekt sind. Ein Beispiel hierfür ist der Stamm DH5 α mcr, der von Grant et al. (Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 87 (1990) 4645-4649) beschrieben wurde. Die mit Hilfe von Cosmiden klonierten langen DNA-Fragmente können anschließend wiederum in gängige, für die Sequenzierung geeignete Vektoren subkloniert und anschließend sequenziert werden, so wie es z. B. bei Sanger et al. (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 74: 15 5463-5467, 1977) beschrieben ist.

Die erhaltenen DNA-Sequenzen können dann mit bekannten Algorithmen bzw. Sequenzanalyse-Programmen, wie z. B. dem von Staden (Nucleic Acids Research 14, 217-232 (1986)), dem von Marck (Nucleic Acids Research 16, 1829-1836 (1988)) oder dem GCG-Programm von Butler (Methods of Biochemical Analysis 39, 74-97 (1998)), untersucht werden.

20 Die für die metA-Gene kodierenden DNA-Sequenzen von Organismen gemäß obiger Liste I wurde gefunden. Insbesondere wurden DNA-Sequenzen gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 und 45 gefunden. Weiterhin wurden 25 aus diesen vorliegenden DNA-Sequenzen mit den oben beschriebenen Methoden die Aminosäuresequenzen der entsprechenden Proteine abgeleitet. Durch SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 und 46 sind die sich ergebenden Aminosäuresequenzen der metA-Genprodukte dargestellt.

30 Kodierende DNA-Sequenzen, die sich aus den Sequenzen gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 und 45 durch die Degeneration des genetischen Kodes ergeben, sind ebenfalls Gegenstand der Erfindung. In gleicher Weise sind DNA-Sequenzen, die mit diesen Sequenzen oder davon abgeleiteten Sequenzteilen hybridisieren, Gegenstand der Erfindung.

Anleitungen zur Identifizierung von DNA-Sequenzen mittels Hybridisierung findet der Fachmann unter anderem im Handbuch "The DIG System Users Guide für Filter Hybridization" der Firma Boehringer Mannheim GmbH (Mannheim, Deutschland, 1993) und bei Liebl et al. (International Journal of Systematic Bacteriology (1991) 41: 255-260). Anleitungen zur Amplifikation von DNA-

5 Sequenzen mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) findet der Fachmann unter anderem im Handbuch von Gait: Oligonukleotide synthesis: A Practical Approach (IRL Press, Oxford, UK, 1984) und bei Newton und Graham: PCR (Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Deutschland, 1994).

10 Weiterhin ist bekannt, dass Änderungen am N- und/oder C- Terminus eines Proteins dessen Funktion nicht wesentlich beeinträchtigen oder sogar stabilisieren können. Angaben hierzu findet der Fachmann unter anderem bei Ben-Bassat et al. (Journal of Bacteriology 169: 751-757 (1987)), bei O'Regan et al. (Gene 77: 237-251 (1989), bei Sahin-Toth et al. (Protein Sciences 3: 240-247 (1994)), bei Hochuli et al. (Biotechnology 6: 1321-1325 (1988)) und in bekannten 15 Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie.

20 Aminosäuresequenzen, die sich in entsprechender Weise aus den SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 und 46 ergeben, sind ebenfalls Bestandteil der Erfindung.

25 e) Erfindungsgemäß verwendete Wirtszellen

Weitere Gegenstände der Erfindung betreffen als Wirtszelle dienende Mikroorganismen, insbesondere coryneforme Bakterien, die einen Vektor, insbesondere Pendelvектор oder Plasmidvektor, der wenigstens ein metA-Gen erfindungsgemäßer Definition trägt, enthalten oder in denen 25 ein erfindungsgemäßes metA-Gen exprimiert bzw. verstärkt ist.

30 Diese Mikroorganismen können schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, aus Glucose, Saccharose, Lactose, Fructose, Maltose, Melasse, Stärke, Cellulose oder aus Glycerin und Ethanol herstellen. Vorzugsweise sind dies coryneforme Bakterien, insbesondere der Gattung Corynebacterium. Aus der Gattung Corynebacterium ist insbesondere die Art Corynebacterium glutamicum zu nennen, die in der Fachwelt für ihre Fähigkeit bekannt ist, L-Aminosäuren zu produzieren.

35 Als Beispiele für geeignete Stämme coryneformer Bakterien sind solche der Gattung Corynebacterium, insbesondere der Art Corynebacterium glutamicum (C. glutamicum), wie

Corynebacterium glutamicum ATCC 13032,
Corynebacterium acetoglutamicum ATCC 15806,
Corynebacterium acetoacidophilum ATCC 13870,
Corynebacterium thermoaminogenes FERM BP-1539,

5 Corynebacterium melassecola ATCC 17965

oder

der Gattung Brevibacterium, wie

Brevibacterium flavum ATCC 14067

10 Brevibacterium lactofermentum ATCC 13869 und

Brevibacterium ditaricatum ATCC 14020 zu nennen;

oder davon abgeleitete Stämme, wie

Corynebacterium glutamicum KFCC10065

Corynebacterium glutamicum ATCC21608

15

welche ebenfalls die gewünschte Feinchemikalie oder deren Vorstufe(n) produzieren.

Mit der Abkürzung KFCC ist die Korean Federation of Culture Collection gemeint, mit der Abkürzung ATCC die American type strain culture collection, mit der Abkürzung FERM BP die Sammlung des National Institute of Bioscience and Human-Technology, Agency of Industrial Science

20 and Technology, Japan bezeichnet.

f) Durchführung der erfindungsgemäßen Fermentation

25 Erfindungsgemäß wurde festgestellt, dass coryneforme Bakterien nach Überexpression eines metA-Gens aus Organismen der Liste I in vorteilhafter Weise schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, produzieren.

Zur Erzielung einer Überexpression kann der Fachmann unterschiedliche Maßnahmen einzeln oder in Kombination ergreifen. So kann die Kopienzahl der entsprechenden Gene erhöht werden, oder es kann die Promotor- und Regulationsregion oder die Ribosomenbindungsstelle, die sich stromaufwärts des Strukturgens befindet, mutiert werden. In gleicher Weise wirken Expressionskassetten, die stromaufwärts des Strukturgens eingebaut werden. Durch induzierbare Promotoren ist es zusätzlich möglich, die Expression im Verlaufe der fermentativen L-Methionin-Produktion zu steigern. Durch Maßnahmen zur Verlängerung der Lebensdauer der mRNA wird ebenfalls die Expression verbessert. Weiterhin wird durch Verhinderung des Abbaus des Enzymproteins ebenfalls die Enzymaktivität verstärkt. Die Gene oder Genkonstrukte können ent-

weder in Plasmiden mit unterschiedlicher Kopienzahl vorliegen oder im Chromosom integriert und amplifiziert sein. Alternativ kann weiterhin eine Überexpression der betreffenden Gene durch Veränderung der Medienzusammensetzung und Kulturführung erreicht werden.

5 Anleitungen hierzu findet der Fachmann unter anderem bei Martin et al. (Bionotechnology 5, 137-146 (1987)), bei Guerrero et al. (Gene 138, 35-41 (1994)), Tsuchiya und Morinaga (Bio/Technology 6, 428-430 (1988)), bei Eikmanns et al. (Gene 102, 93-98 (1991)), in der Europäischen Patentschrift 0472869, im US Patent 4,601,893, bei Schwarzer und Pühler (Biotechnology 9, 84-87 (1991)), bei Remscheid et al. (Applied and Environmental Microbiology 60, 126-132 (1994)), bei LaBarre et al. (Journal of Bacteriology 175, 1001-1007 (1993)), in der Patentanmeldung WO 96/15246, bei Malumbres et al. (Gene 134, 15-24 (1993)), in der japanischen Offenlegungsschrift JP-A-10-229891, bei Jensen und Hammer (Biotechnology and Bioengineering 58, 191-195 (1998)), bei Makrides (Microbiological Reviews 60 : 512-538 (1996) und in bekannten Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie.

15 Gegenstand der Erfindung sind deshalb auch Expressionskonstrukte, enthaltend unter der genetischen Kontrolle regulativer Nukleinsäuresequenzen eine für ein erfindungsgemäßes Polypeptid kodierende Nukleinsäuresequenz; sowie Vektoren, umfassend wenigstens eines dieser Expressionskonstrukte. Vorzugsweise umfassen solche erfindungsgemäßigen Konstrukte 5'-stromaufwärts von der jeweiligen kodierenden Sequenz einen Promotor und 3'-stromabwärts 20 eine Terminatorsequenz sowie gegebenenfalls weitere übliche regulative Elemente, und zwar jeweils operativ verknüpft mit der kodierenden Sequenz. Unter einer „operativen Verknüpfung“ versteht man die sequentielle Anordnung von Promotor, kodierender Sequenz, Terminator und gegebenenfalls weiterer regulativer Elemente derart, dass jedes der regulativen Elemente seine 25 Funktion bei der Expression der kodierenden Sequenz bestimmungsgemäß erfüllen kann. Beispiele für operativ verknüpfbare Sequenzen sind Aktivierungssequenzen sowie Enhancer und dergleichen. Weitere regulative Elemente umfassen selektierbare Marker, Amplifikationssignale, Replikationsursprünge und dergleichen. Geeignete regulatorische Sequenzen sind z.B. beschrieben in Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic 30 Press, San Diego, CA (1990).

35 Zusätzlich zu den artifiziellen Regulationssequenzen kann die natürliche Regulationssequenz vor dem eigentlichen Strukturen noch vorhanden sein. Durch genetische Veränderung kann diese natürliche Regulation gegebenenfalls ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht oder erniedrigt werden. Das Genkonstrukt kann aber auch einfacher aufgebaut sein, das heißt es werden keine zusätzlichen Regulationssignale vor das Strukturen insertiert und der natürli-

che Promotor mit seiner Regulation wird nicht entfernt. Statt dessen wird die natürliche Regulatorensequenz so mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt und die Genexpression gesteigert oder verringert wird. Die Nukleinsäuresequenzen können in einer oder mehreren Kopien im Genkonstrukt enthalten sein.

5 Beispiele für brauchbare Promotoren sind: die Promotoren, ddh, amy, lysC, dapA, lysA aus *Corynebacterium glutamicum*, aber auch gram-positiven Promotoren SPO2 wie sie in *Bacillus Subtilis and Its Closest Relatives*, Sonenshein, Abraham L., Hoch, James A., Losick, Richard; ASM Press, District of Columbia, Washington und Patek M. Eikmanns BJ. Patek J. Sahm H. Microbiology. 142 1297-309, 1996 beschrieben sind, oder aber auch cos-, tac-, trp-, tet-, trp-tet-, lpp-, lac-
10 logy. 142 1297-309, 1996 beschrieben sind, oder aber auch cos-, tac-, trp-, tet-, trp-tet-, lpp-, lac-
15 , lpp-lac-, lacIq-, T7-, T5-, T3-, gal-, trc-, ara-, SP6-, λ-PR- oder im λ-PL-Promotor, die vorteilhaft, in gram-negativen Bakterien Anwendung finden. Bevorzugt ist auch die Verwendung induzierbarer Promotoren, wie z.B. licht- und insbesondere temperaturinduzierbarer Promotoren, wie der P_rP_i-Promotor. Prinzipiell können alle natürlichen Promotoren mit ihren Regula-
tionssequenzen verwendet werden. Darüber hinaus können auch synthetische Promotoren vor-
teilhaft verwendet werden.

Die genannten regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Nukleinsäuresequenzen ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das
20 Gen erst nach Induktion exprimiert oder überexprimiert wird, oder dass es sofort exprimiert und/oder überexprimiert wird.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei vorzugsweise die Expression positiv beeinflussen und dadurch erhöhen oder erniedrigen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

30 Die Herstellung einer Expressionskassette erfolgt durch Fusion eines geeigneten Promotors, einer geeigneten Shine-Dalgarnow-Sequenz mit einer metA-Nukleotidsequenz sowie einem geeigneten Terminationssignal. Dazu verwendet man gängige Rekombinations- und Klonierungstechniken, wie sie beispielsweise in *Current Protocols in Molecular Biology*, 1993, John Wiley & Sons, Incorporated, New York New York, PCR Methods, Gelfand, David H., Innis, Michael A., Sninsky, John J. 1999, Academic Press, Incorporated, California, San Diego, , PCR Cloning Protocols, Methods in Molecular Biology Ser., Vol. 192, 2nd ed., Humana Press, New

Jersey, Totowa. T. Maniatis, E.F. Fritsch und J. Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) sowie in T.J. Silhavy, M.L. Berman und L.W. Enquist, *Experiments with Gene Fusions*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1984) und in Ausubel, F.M. et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience (1987) beschrieben sind.

5

Das rekombinante Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt wird zur Expression in einem geeigneten Wirtsorganismus vorteilhafterweise in einen wirtsspezifischen Vektor insertiert, der eine optimale Expression der Gene im Wirt ermöglicht. Vektoren sind dem Fachmann wohl bekannt und können beispielsweise aus "Cloning Vectors" (Pouwels P. H. et al., Hrsg, Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985) entnommen werden. Unter Vektoren sind außer Plasmiden auch alle anderen dem Fachmann bekannten Vektoren, wie beispielsweise Phagen, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Cosmide, und lineare oder zirkuläre DNA zu verstehen. Diese Vektoren können autonom im Wirtsorganismus repliziert oder chromosomal repliziert werden.

15

Zur Verstärkung wurden erfindungsgemäße metA-Gene beispielhaft mit Hilfe von episomalen Plasmiden überexprimiert. Als Plasmide eignen sich solche, die in coryneformen Bakterien repliziert werden. Zahlreiche bekannte Plasmidvektoren, wie z. B. pZ1 (Menkel et al., *Applied and Environmental Microbiology* (1989) 64: 549-554), pEKEx1 (Eikmanns et al., *Gene* 102: 93-98 (1991)) oder pHs2-1 (Sonnen et al., *Gene* 107: 69-74 (1991)) beruhen auf den kryptischen

20 Plasmiden pHM1519, pBL1 oder pGA1. Andere Plasmidvektoren, wie z. B. pCLiK5MCS, oder solche, die auf pCG4 (US-A 4,489,160) oder pNG2 (Serwold-Davis et al., *FEMS Microbiology Letters* 66, 119-124 (1990)) oder pAG1 (US-A 5,158,891) beruhen, können in gleicher Weise verwendet werden.

25

Weiterhin eignen sich auch solche Plasmidvektoren mit Hilfe derer man das Verfahren der Genamplifikation durch Integration in das Chromosom anwenden kann, so wie es beispielsweise von Remscheid et al. (*Applied and Environmental Microbiology* 60, 126-132 (1994)) zur Duplikation bzw. Amplifikation des *hom-thrB*-Operons beschrieben wurde. Bei dieser Methode wird das

30 vollständige Gen in einen Plasmidvektor kloniert, der in einem Wirt (typischerweise *E. coli*), nicht aber in *C. glutamicum* replizieren kann. Als Vektoren kommen beispielsweise pSUP301 (Sirnon et al., *Bio/ Technology* 1,784-791 (1983)), pK18mob oder pK19mob (Schäfer et al., *Gene* 145,69-73 (1994)), Bernard et al., *Journal of Molecular Biology*, 234: 534-541 (1993)), pEM1 (Schrumpf et al. 1991, *Journal of Bacteriology* 173: 4510-4516) oder pBGS8 (Spratt et al., 1986,

35 *Gene* 41: 337-342) in Frage. Der Plasmidvektor, der das zu amplifizierende Gen enthält, wird anschließend durch Transformation in den gewünschten Stamm von *C. glutamicum* überführt.

Methoden zur Transformation sind beispielsweise bei Thierbach et al. (Applied Microbiology and Biotechnology 29, 356-362 (1988)), Duncian und Shivnan (Biotechnology 7, 1067-1070 (1989)) und Tauch et al. (FEMS Microbiological Letters 123,343-347 (1994)) beschrieben.

5 Enzyme können durch Mutationen in den korrespondierenden Genen derart in ihrer Aktivität beeinflußt werden, dass es zu einer teilweisen oder vollständigen Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit der enzymatischen Reaktion kommt. Beispiele für solche Mutationen sind dem Fachmann bekannt (Motoyama H. Yano H. Terasaki Y. Anazawa H. Applied & Environmental Microbiology. 67:3064-70, 2001, Eikmanns BJ. Eggeling L. Sahm H. Antonie van Leeuwenhoek. 10 64:145-63, 1993-94.)

Zusätzlich kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, neben einer Expression bzw. Verstärkung eines erfindungsgemäßen 15 CysteinmetA-Gen eines oder mehrere Enzyme des jeweiligen Biosyntheseweges, des Cystein-Stoffwechselwegs, der Aspartatsemialdehyd-Synthese, der Glykolyse, der Anaplerotik, des Pentose-Phosphat-Stoffwechsels, des Zitronensäure-Zyklus oder des Aminosäure-Exports zu verstärken.

20 So kann für die Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, eines oder mehrere der folgenden Gene verstärkt sein:

- das für eine Aspartatkinase kodierende Gen lysC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 281),
- das für eine Aspartat-Semialdehyd Dehydrogenase kodierende Gen asd (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 282),
- das für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierende Gen gap (Eikmanns 25 (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),
- das für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierende Gen pgk (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),
- das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen pyc (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),
- das für die Triosephosphat Isomerase kodierende Gen tpi (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),
- das für die Methionin Synthase kodierende Gen metH (EP 1 108 790 A2),
- das für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierende Gen metB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ 30 NO. 3491),
- das für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierende Gen metC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3061),

- das für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierende Gen *glyA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1110),

- das für die O-Acetylhomoserin-Sulphydrylase kodierende Gen *metY* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 726),

5 - das für die Methylentetrahydrofolat-Reduktase kodierende Gen *metF* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2379),

- das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierende Gen *serC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 928)

- eines für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende Gen *serB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ

10 NO. 334, DNA-SEQ NO. 467, DNA-SEQ NO. 2767)

- das für die Serine Acetyl-Transferase kodierende Gen *cysE* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2818)

- das für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen *hom* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1306)

15

So kann für die Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, in coryneformen Bakterien, vorteilhaft sein, gleichzeitig wenigstens eines der nachfolgenden Gene zu mutieren, so dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch einen Stoffwechselmetaboliten in ihrer Aktivität beeinflusst

20

werden:

- das für eine Aspartatkinase kodierende Gen *lysC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 281),

- das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen *pyc* (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

25 - das für die Methionin Synthase kodierende Gen *metH* (EP 1 108 790 A2),

- das für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierende Gen *metB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3491),

- das für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierende Gen *metC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3061),

30 - das für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierende Gen *glyA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1110),

- das für die O-Acetylhomoserin-Sulphydrylase kodierende Gen *metY* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 726),

35 - das für die Methylentetrahydrofolat-Reduktase kodierende Gen *metF* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2379),

- das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierende Gen *serC* (EP 1 108 790 A2; DNA-

SEQ NO. 928)

- eines für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende Gen serB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 334, DNA-SEQ NO. 467, DNA-SEQ NO. 2767)

- das für die Serine Acetyl-Transferase kodierende Gen cysE (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO.

5 2818)

- das für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen hom (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1306)

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-
10 Methionin, vorteilhaft sein, zusätzlich zur Expression bzw. Verstärkung eines der erfindungsge-
mäßen metA-Gene eines oder mehrere der folgenden Gene abzuschwächen, insbesondere
deren Expression zu verringern, oder auszuschalten:

- das für die Homoserine-Kinase kodierende Gen thrB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3453)

15 - das für die Threonin Dehydratase kodierende Gen ilvA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO.
2328)

- das für die Threonin Synthase kodierende Gen thrC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3486)

- das für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierende Gen ddh (EP 1 108 790 A2;
DNA-SEQ NO. 3494)

20 - das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierende Gen pck (EP 1 108 790 A2; DNA-
SEQ NO. 3157)

- das für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierende Gen pgi (EP 1 108 790 A2; DNA-
SEQ NO. 950)

- das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen poxB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2873)

25 - das für die Dihydripicolinat Synthase kodierende Gen dapA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO.
3476)

- das für die Dihydripicolinat Reduktase kodierende Gen dapB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ
NO. 3477)

- das für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierende Gen lysA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ

30 NO. 3451)

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-
Methionin, vorteilhaft sein, zusätzlich zur Expression bzw. Verstärkung eines der erfindungsge-
mäßen metA-Gene in Coryneformen Bakterien gleichzeitig wenigstens eines der folgenden Ge-
ne so zu mutieren, dass die enzymatische Aktivität des korrespondierenden Proteins teilweise
35 oder vollständig verringert wird:

- das für die Homoserine-Kinase kodierende Gen thrB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3453)
- das für die Threonin Dehydratase kodierende Gen ilvA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2328)

5 - das für die Threonin Synthase kodierende Gen thrC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3486)

- das für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierende Gen ddh (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3494)

10 - das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierende Gen pck (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3157)

15 - das für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierende Gen pgi (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 950)

- das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen poxB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2873)
- das für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierende Gen dapA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3476)

20 - das für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierende Gen dapB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3477)

- das für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierende Gen lysA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3451)

25 Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, neben der Expression bzw. Verstärkung eines erfindungsgemäßen metA-Gens unerwünschte Nebenreaktionen auszuschalten (Nakayama: "Breeding of Amino Acid Producing Microorganisms", in: Overproduction of Microbial Products, Krumphanzl, Sikyta, Vanek (eds.), Academic Press, London, UK, 1982).

30 25 Die erfindungsgemäß hergestellten Mikroorganismen können kontinuierlich oder diskontinuierlich im batch- Verfahren (Satzkultivierung) oder im fed batch (Zulaufverfahren) oder repeated fed batch Verfahren (repetitives Zulaufverfahren) zur Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, kultiviert werden. Eine Zusammenfassung über bekannte Kultivierungsmethoden ist im Lehrbuch von Chmiel (Bioprozeßtechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) oder im Lehrbuch von Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden, 1994)) zu finden.

35 Das zu verwendende Kulturmedium hat in geeigneter Weise den Ansprüchen der jeweiligen Stämme zu genügen. Beschreibungen von Kulturmedien verschiedener Mikroorganismen sind

im Handbuch "Manual of Methods für General Bacteriology" der American Society für Bacteriology (Washington D. C., USA, 1981) enthalten.

Diese erfindungsgemäß einsetzbaren Medien umfassen gewöhnlich eine oder mehreren Kohlenstoffquellen, Stickstoffquellen, anorganische Salze, Vitamine und/oder Spurenelemente.

5 Bevorzugte Kohlenstoffquellen sind Zucker, wie Mono-, Di- oder Polysaccharide. Sehr gute Kohlenstoffquellen sind beispielsweise Glucose, Fructose, Mannose, Galactose, Ribose, Sorbose, Ribulose, Lactose, Maltose, Saccharose, Raffinose, Stärke oder Cellulose. Man kann Zucker 10 auch über komplexe Verbindungen, wie Melassen, oder andere Nebenprodukte der Zucker-Raffinierung zu den Medien geben. Es kann auch vorteilhaft sein, Gemische verschiedener Kohlenstoffquellen zuzugeben. Andere mögliche Kohlenstoffquellen sind Öle und Fette wie z. B. Sojaöl, Sonnenblumenöl, Erdnußöl und Kokosfett, Fettsäuren wie z. B. Palmitinsäure, Stearin- 15 säure oder Linolsäure, Alkohole wie z. B. Glycerin, Methanol oder Ethanol und organische Säuren wie z. B. Essigsäure oder Milchsäure.

Stickstoffquellen sind gewöhnlich organische oder anorganische Stickstoffverbindungen oder Materialien, die diese Verbindungen enthalten. Beispielhafte Stickstoffquellen umfassen Ammoniak-Gas oder Ammoniumsalze, wie Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid, Ammoniumphosphat, 20 Ammoniumcarbonat oder Ammoniumnitrat, Nitrate, Harnstoff, Aminosäuren oder komplexe Stickstoffquellen, wie Maisquellwasser, Sojamehl, Sojaprotein, Hefeextrakt, Fleischextrakt und andere. Die Stickstoffquellen können einzeln oder als Mischung verwendet werden.

Anorganische Salzverbindungen, die in den Medien enthalten sein können, umfassen die Chlorid-, Phosphor- oder Sulfatsalze von Calcium, Magnesium, Natrium, Kobalt, Molybdän, Kalium, 25 Mangan, Zink, Kupfer und Eisen

Als Schwefelquelle für die Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere von Methionin, können anorganische schwefelhaltige Verbindungen wie beispielsweise Sulfate, Sulfite, Dithionite, Tetrathionate, Thiosulfate, Sulfide aber auch organische Schwefelverbindungen, 30 wie Mercaptane und Thiole, verwendet werden.

Als Phosphorquelle können Phosphorsäure, Kaliumdihydrogenphosphat oder Dikaliumhydrogenphosphat oder die entsprechenden Natrium haltigen Salze verwendet werden.

35 Chelatbildner können zum Medium gegeben werden, um die Metallionen in Lösung zu halten.

Besonders geeignete Chelatbildner umfassen Dihydroxyphenole, wie Catechol oder Protocatechuat, oder organische Säuren, wie Citronensäure.

Die erfindungsgemäß eingesetzten Fermentationsmedien enthalten üblicherweise auch andere 5 Wachstumsfaktoren, wie Vitamine oder Wachstumsförderer, zu denen beispielsweise Biotin, Riboflavin, Thiamin, Folsäure, Nikotinsäure, Panthothenat und Pyridoxin gehören. Wachstumsfaktoren und Salze stammen häufig von komplexen Medienkomponenten, wie Hefeextrakt, Me- 10 lassen, Maisquellwasser und dergleichen. Dem Kulturmedium können überdies geeignete Vorstufen zugesetzt werden. Die genaue Zusammensetzung der Medienverbindungen hängt stark 15 vom jeweiligen Experiment ab und wird für jeden spezifischen Fall individuell entschieden. In- formation über die Medienoptimierung ist erhältlich aus dem Lehrbuch "Applied Microbiol. Physi- ology, A Practical Approach" (Hrsg. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) S. 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Wachstumsmedien lassen sich auch von kommerziellen Anbietern beziehen, wie Standard 1 (Merck) oder BHI (Brain heart infusion, DIFCO) und dergleichen.

15 Sämtliche Medienkomponenten werden, entweder durch Hitze (20 min bei 1,5 bar und 121°C) oder durch Sterilfiltration, sterilisiert. Die Komponenten können entweder zusammen oder nötigenfalls getrennt sterilisiert werden. Sämtliche Medienkomponenten können zu Beginn der An- 20 zucht zugegen sein oder wahlfrei kontinuierlich oder chargenweise hinzugegeben werden.

20 Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise zwischen 15°C und 45°C, vorzugsweise bei 25°C bis 40°C und kann während des Experiments konstant gehalten oder verändert werden. Der pH-Wert des Mediums sollte im Bereich von 5 bis 8,5, vorzugsweise um 7,0 liegen. Der pH-Wert für die Anzucht lässt sich während der Anzucht durch Zugabe von basische Verbindungen wie 25 Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid, Ammoniak bzw. Ammoniakwasser oder saure Verbindungen wie Phosphorsäure oder Schwefelsäure kontrollieren. Zur Kontrolle der Schaumentwicklung können Antischaummitte, wie z. B. Fettsäurepolyglykolester, eingesetzt werden. Zur Aufrechtern- 30 haltung der Stabilität von Plasmiden können dem Medium geeignete selektiv wirkende Stoffe, wie z. B. Antibiotika, hinzugefügt werden. Um aerobe Bedingungen aufrechtzuerhalten, werden Sauerstoff oder Sauerstoff haltige Gasmischungen, wie z. B. Umgebungsluft, in die Kultur einge- tragen. Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise bei 20°C bis 45°C. Die Kultur wird solange fortgesetzt, bis sich ein Maximum des gewünschten Produktes gebildet hat. Dieses Ziel wird normalerweise innerhalb von 10 Stunden bis 160 Stunden erreicht.

35 Die so erhaltenen, insbesondere L-Methionin enthaltenden, Fermentationsbrühen haben üblicherweise eine Trockenmasse von 7,5 bis 25 Gew.-%.

Vorteilhaft ist außerdem auch, wenn die Fermentation zumindest am Ende, insbesondere jedoch über mindestens 30% der Fermentationsdauer zuckerlimitiert gefahren wird. Das heißt, dass während dieser Zeit die Konzentration an verwertbarem Zucker im Fermentationsmedium auf ≥ 0

5 bis 3 g/l gehalten, beziehungsweise abgesenkt wird.

Die Fermentationsbrühe wird anschließend weiterverarbeitet. Je nach Anforderung kann die Biomasse ganz oder teilweise durch Separationsmethoden, wie z. B. Zentrifugation, Filtration, Dekantieren oder einer Kombination dieser Methoden aus der Fermentationsbrühe entfernt oder vollständig in ihr belassen werden.

10 vollständig in ihr belassen werden.

Anschließend kann die Fermentationsbrühe mit bekannten Methoden, wie z. B. mit Hilfe eines Rotationsverdampfers, Dünnschichtverdampfers, Fallfilmverdampfers, durch Umkehrosmose, oder durch Nanofiltration, eingedickt beziehungsweise aufkonzentriert werden. Diese aufkonzentrierte Fermentationsbrühe kann anschließend durch Gefriertrocknung, Sprühtrocknung, Sprühgranulation oder durch anderweitige Verfahren aufgearbeitet werden.

15 zentrierte Fermentationsbrüne kann anschließend durch Centrifugation, Sprühgranulation oder durch anderweitige Verfahren aufgearbeitet werden.

Es ist aber auch möglich die schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesonder L-Methionin, weiter aufzureinigen. Hierzu wird die produkthaltige Brühe nach dem Abtrennen der Biomasse einer Chromatographie mit einem geeigneten Harz unterworfen, wobei das gewünschte Produkt oder die Verunreinigungen ganz oder teilweise auf dem Chromatographieharz zurückgehalten werden. Diese Chromatographieschritte können nötigenfalls wiederholt werden, wobei die gleichen oder andere Chromatographieharze verwendet werden. Der Fachmann ist in der Auswahl der geeigneten Chromatographieharze und ihrer wirksamsten Anwendung bewandert. Das gereinigte Produkt kann durch Filtration oder Ultrafiltration konzentriert und bei einer Temperatur aufbewahrt werden, bei der die Stabilität des Produktes maximal ist.

20 Chromatographie mit einem geeigneten Harz unterworfen, wobei das gewählte Harz die Verunreinigungen ganz oder teilweise auf dem Chromatographieharz zurückgehalten werden. Diese Chromatographieschritte können nötigenfalls wiederholt werden, wobei die gleichen oder andere Chromatographieharze verwendet werden. Der Fachmann ist in der Auswahl der geeigneten Chromatographieharze und ihrer wirksamsten Anwendung bewandert. Das gereinigte Produkt kann durch Filtration oder Ultrafiltration konzentriert und bei einer Temperatur aufbewahrt werden, bei der die Stabilität des Produktes maximal ist.

Die Identität und Reinheit der isolierten Verbindung(en) kann durch Techniken des Standes der Technik bestimmt werden. Diese umfassen Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), spektroskopische Verfahren, Färbeverfahren, Dünnschichtchromatographie, NIRS, Enzymtest oder mikrobiologische Tests. Diese Analyseverfahren sind zusammengefaßt in: Patek et al. (1994) *Appl. Environ. Microbiol.* 60:133-140; Malakhova et al. (1996) *Biotehnologiya* 11 27-32; und Schmidt et al. (1998) *Bioprocess Engineer.* 19:67-70. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (1996) Bd. A27, VCH: Weinheim, S. 89-90, S. 521-540, S. 540-547, S. 559-566, 575-581 und S. 581-587; Michal, G (1999) *Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology*, John Wiley and Sons; Fallon, A. et al. (1987) *Applications of HPLC in Biochemistry*, Marcel Dekker: New York.

mistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17.

Die Erfindung wird nun anhand der folgenden nicht-limitierenden Beispiele und unter Bezugnahme auf beiliegende Figuren näher beschrieben. Dabei zeigt

5

Figur 1 die Plasmidkarte zu Plasmid pClysC;

Figur 2 die Plasmidkarte zu Plasmid pCISlysCthr311ile;

Figur 3 die Plasmidkarte zu Plasmid pC_meta_Cd.

Restriktionsschnittstellen mit der entsprechenden Positionsangabe in Klammern sind in den 10 Plasmidkarten angegeben. Wesentliche Sequenzabschnitte sind fettgedruckt beschrieben. KanR steht für Kanamycin-Resistenzgen; ask steht für Aspartatkinasegen.

Beispiel 1: Konstruktion von pCLIK5MCS

15

Zunächst wurden Ampicillinresistenz und Replikationsursprung des Vektors pBR322 mit den Oligonukleotiden p1.3 (SEQ ID NO:47) und p2.3 (SEQ ID NO:48) mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert.

20 p1.3 (SEQ ID NO:47)

5'-CCCGGGATCCGCTAGCGGCCGCCGGCCGGTGTGAAATACCGCACAG-3'

p2.3 (SEQ ID NO:48)

5'-TCTAGACTCGAGCGGCCGCCGCCCTTAAATTGAAGACGAAAGGGCCTCG-3'

25

Neben den zu pBR322 komplementären Sequenzen, enthält das Oligonukleotid p1.3 (SEQ ID NO:47) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen SmaI, BamHI, NheI und Ascl und das Oligonukleotid p2.3 (SEQ ID NO:48) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen XbaI, Xhol, NotI und DraI. Die PCR Reaktion wurde nach Stan-

30 dardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 2,1 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Die stumpfen Enden des DNA-Fragmentes wurden mit dem Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers miteinander ligiert und der Ligationsan-

35

satz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Ampicillin (50µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

5 Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK1.

10 Ausgehend vom Plasmid pWLT1 (Liebl et al., 1992) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden neo1 (SEQ ID NO:49) und neo2 (SEQ ID NO:50) eine Kanamycin-Resistenzcassette amplifiziert.

neo1 (SEQ ID NO:49):
15 5'-GAGATCTAGACCCGGGGATCCGCTAGCGGGCTGCTAAAGGAAGCGGA-3'

neo2 (SEQ ID NO:50):
5'-GAGAGGCGCGCCGCTAGCGTGGCGAAGAACTCCAGCA-3'

20 Neben den zu pWLT1 komplementären Sequenzen, enthält das Oligonukleotid neo1 in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen XbaI, SmaI, BamHI, NheI und das Oligonukleotid neo2 (SEQ ID NO:50) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen Ascl und NheI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 1,3 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit den Restriktionsendonukleasen XbaI und Ascl (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Der Vektor pCLiK1 wurde ebenfalls mit den Restriktionsendonukleasen XbaI und Ascl geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 2,1kb) mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit

dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Ampicillin (50µg/ml) und

5 Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK2.

10 Der Vektor pCLiK2 wurde mit der Restriktionsendonuklease Drai (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde ein ca. 2,3 kb großes Vektorfragment mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers religiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben (1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

15

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK3.

20 25 Ausgehend vom Plasmid pWLQ2 (Liebl et al., 1992) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden cg1 ((SEQ ID NO:51) und cg2 (SEQ ID NO:52) der Replikationsursprung pHM1519 amplifiziert.

30 cg1 (SEQ ID NO:51):
5'-GAGAGGGCGGCCGCGCAAAGTCCCGCTTCGTGAA-3'

cg2 (SEQ ID NO:52):
5'-GAGAGGGCGGCCGCTCAAGTCGGTCAAGCCACGC-3'

35 Neben den zu pWLQ2 komplementären Sequenzen, enthalten die Oligonukleotide cg1 (SEQ ID

NO:51) und cg2 (SEQ ID NO:52) Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 2,7 kb wurde mit dem

5 GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease NotI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Der Vektor pCLiK3 wurde ebenfalls mit der Restriktionsendonuklease

10 NotI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 2,3kb) mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz

15 nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

20 Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdau überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5.

25 Für die Erweiterung von pCLiK5 um eine „multiple cloning site“ (MCS) wurden die beide synthetischen, weitestgehend komplementären Oligonukleotide HS445 ((SEQ ID NO:53) und HS446 (SEQ ID NO:54), die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen Swal, Xhol, AatI, ApaI, Asp718, MluI, NdeI, SphI, EcoRV, SalI, ClaI, BamHI, XbaI und SmaI enthalten, durch gemeinsames erhitzen auf 95°C und langsames abkühlen zu einem doppelsträngigen DNA-Fragment vereinigt.

30

HS445 (SEQ ID NO:53):

5'-TCGAATTTAAATCTGAGAGGCCCTGACGTCGGGCCGGTACCACGCGTCATATGACTAG
TTCGGACCTAGGGATATCGTCGACATCGATGCTCTCGCTTAATTAACAATTGGGATCC

35 TCTAGACCCGGGATTAAAT-3'

HS446 (SEQ ID NO:54):

5'-GATCATTAAATCCGGGTCTAGAGGATCCAATTGTTAACGCAGAAGAGCATCGA
TGTCGACGATATCCCTAGGTCCGAACTAGTCATATGACGCGTGGTACCGGGCCCGACGTC
AGGCCTCTGAGATTAAAT-3'

5 Der Vektor pCLiK5 wurde mit den Restriktionsendonuklease Xhol und BamHI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (I (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 5,0 kb) mit dem GFXTMPCR, DNA and

10 Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem synthetischen Doppelsträngigen DNA-Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente

15 E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20 μ g/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

20 Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5MCS.

25 Sequenzierreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

Das entstandene Plasmid pCLiK5MCS ist als SEQ ID NO: 57 aufgeführt.

Beispiel 2: Konstruktion von pCLiK5MCS integrativ sacB

30 Ausgehend vom Plasmid pK19mob (Schäfer et al., Gene 145,69-73(1994)) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden BK1732 und BK1733 das *Bacillus subtilis* *sacB* Gen (kodierend für Levan Sucrase) amplifiziert.

35 BK1732 (SEQ ID NO:55):
5'-GAGAGCGGCCGCGATCCTTTAACCCATCAC-3'

BK1733 (SEQ ID NO:56):

5'-AGGAGCGGCCGCCATCGGCATTTCTTTGCG-3'

5 Neben den zu pEK19mobsac komplementären Sequenzen, enthalten die Oligonukleotide BK1732 und BK1733 Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 1,9 kb wurde mit dem

10 GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease NotI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt.

15 Der Vektor pCLiK5MCS (hergestellt gemäß Beispiel 1) wurde ebenfalls mit der Restriktionsendonuklease NotI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (I (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde ein ungefähr 2,4 kb großes Vektorfragment mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

20 25 30

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdau überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5MCS integrativ sacB.

Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

35 Das entstandene Plasmid pCLiK5MCS integrativ sacB ist als SEQ ID NO: 58 aufgeführt.

Weitere Vektoren die zur erfindungsgemäßen Expression oder Überproduktion von metA-Genen geeignet sind, können in analoger Weise herstellt werden.

5 **Beispiel 3: Isolierung des lysC Gens aus dem C. glutamicum Stamm LU1479**

Im ersten Schritt der Stammkonstruktion soll ein allelischer Austausch des lysC Wildtypgens, kodierend für das Enzym Aspartatkinase, in C. glutamicum ATCC13032, im folgenden LU1479 genannt, durchgeführt werden. Dabei soll im LysC Gen ein Nukleotidaustausch durchgeführt werden, so dass im resultierenden Protein die Aminosäure Thr an der Position 311 durch die Aminosäure Ile ausgetauscht ist.

10 Ausgehend von der chromosomalen DNA aus LU1479 als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotidprimern SEQ ID NO:59 und SEQ ID NO:60 lysC mit Hilfe des Pfu-Turbo PCR Systems (Stratagene USA) nach Angaben des Herstellers amplifiziert. Chromosomal DNA aus C. glutamicum ATCC 13032 wurde nach Tauch et al. (1995) Plasmid 33:168-179 oder Eikmanns et al. (1994) Microbiology 140:1817-1828 präpariert. Das amplifizierte Fragment wird an seinem 5'-Ende von einem Sall Restriktionsschnitt und an seinem 3'-Ende von einem MluI Restriktionsschnitt flankiert. Vor der Klonierung wurde das amplifizierte Fragment durch diese beiden Restriktionsenzyme verdaut und mit GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) aufgereinigt.

20 SEQ ID NO:59

5'-GAGAGAGAGACGCGTCCCAGTGGCTGAGACGCATC -3'

25

SEQ ID NO:60

5'-CTCTCTCTGTCGACGAATTCAATCTTACGGCCTG-3'

30 Das erhaltenen Polynukleotid wurde über die Sall und MluI Restriktionsschnitte in pCLIK5 MCS integrativ SacB (im folgenden pCIS genannt; SEQ ID NO: 58 aus Beispiel 2) kloniert und in E.coli XL-1 blue transformiert. Eine Selektion auf Plasmid-tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml)-haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht. Das Plasmid wurden isoliert und durch Sequenzierung die erwartete Nukleotidsequenz bestätigt. Die Präparation der Plasmid-DNA wurde nach Methoden und mit Materialien der Firma 35 Quiagen durchgeführt. Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzier-

reaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet. Das erhaltene Plasmid pCIS lysC ist als SEQ ID NO:61 aufgeführt. Die entsprechende Plasmidkarte ist in Figur 1 dargestellt.

5 Die Sequenz SEQ ID NO:61 umfasst die folgenden wesentlichen Teilbereiche:

LOCUS pCIS\lysC 5860 bp DNA circular
FEATURES Location/Qualifiers
CDS¹⁾ 155..1420
/vntifkey="4"
10 CDS /label=lysC
complement²⁾(3935..5356)
/vntifkey="4"
/label=sacB\bacillus\subtilis
promoter complement(5357..5819)
15 CDS /vntifkey="30"
/label=Promotor\sacB
C_region complement(3913..3934)
/vntifkey="2"
/label=sacB\downstreambereich
20 CDS 1974..2765
/vntifkey="4"
/label=Kan\R
CDS complement(3032..3892)
/vntifkey="4"
25 /label=Ori\EC\pMB

¹⁾ kodierende Sequenz

²⁾ auf Komplementärstrang

Beispiel 4: Mutagenese des lysC Gens aus C. glutamicum

30 Die gerichtete Mutagenese des lysC Gens aus C. glutamicum (Beispiel 3) wurde mit dem QuickChange Kit (Fa. Stratagene/USA) nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Die Mutagenese wurde im Plasmid pCIS lysC, SEQ ID NO:61 durchgeführt. Für den Austausch von thr311 nach 311ile mit Hilfe der Quickchange Methode (Stratagene) wurden folgende Oligonukleotidprimer synthetisiert

35

SEQ ID NO:62

5'-CGGCACCACCGACATCATCTTCACCTGCCCTCGTTCCG -3'

SEQ ID NO:63

5' -CGGAACGAGGGCAGGTGAAGATGATGTCGGTGGTGCCG -3'

5 Der Einsatz dieser Oligonukleotidprimer in der Quickchange Reaktion führt in dem lysC Gen zu einem Austausch des Nukleotids in Position 932 (von C nach T) (vgl. SEQ ID NO:64) und im korrespondierenden Enzym zu einem Aminosäuresubstitution in Position 311 (Thr→Ile) (vgl. SEQ ID NO:65). Der resultierende Aminosäureaustausch Thr311Ile im lysC Gen wurde nach Transformation in *E.coli* XL1-blue und Plasmidpräparation durch Sequenzierung bestätigt. Das Plasmid erhielt die Bezeichnung pCIS lysC thr311ile und ist als SEQ ID NO:66 aufgeführt. Die entsprechende Plasmidkarte ist in Figur 2 dargestellt.

10

Die Sequenz SEQ ID NO:66 umfasst die folgenden wesentlichen Teilbereiche:

15 LOCUS pCIS\lysC\thr311ile 5860 bp DNA circular
FEATURES Location/Qualifiers
CDS¹⁾ 155..1420
/vntifkey="4"
20 CDS complement²⁾(3935..5356)
/vntifkey="4"
/label=sacB\(*Bacillus\subtilis*)
promoter complement(5357..5819)
25 /vntifkey="30"
/label=Promotor\sacB
C_region complement(3913..3934)
/vntifkey="2"
/label=sacB\downstreambereich
30 CDS 1974..2765
/vntifkey="4"
/label=Kan\R
CDS complement(3032..3892)
/vntifkey="4"
35 /label=Ori\EC\(*pMB*)

¹⁾ kodierende Sequenz

²⁾ auf Komplementärstrang

Das Plasmid pCIS lysC thr311ile wurde in *C. glutamicum* LU1479 mittels Elektroporation wie bei Liebl, et al. (1989) FEMS Microbiology Letters 53:299-303 beschrieben, transformiert. Modifikationen des Protokolls sind in DE-A-10046870 beschrieben. Die chromosomale Anordnung des lysC-Lokus einzelner Transformanten wurde mit Standardmethoden durch Southernblot und 5 Hybridisierung, wie in Sambrook et al. (1989), Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben, überprüft. Dadurch wurde sichergestellt, dass es sich bei den Transformanten um solche handelt, die das transformierte Plasmid durch homologe Rekombination am lysC-Lokus integriert haben. Nach Wachstum solcher Kolonien über Nacht in Medien, die 10 kein Antibiotikum enthielten, wurden die Zellen auf ein Saccharose-CM-Agarmedium (10% Saccharose) ausplattiert und bei 30°C für 24 Stunden inkubiert.

Da das im Vektor pCIS lysC thr311ile enthaltende sacB Gen Saccharose in ein toxisches Produkt umwandelt, können nur solche Kolonien anwachsen, die das sacB Gen durch einen zweiten homologen Rekombinationsschritt zwischen dem Wildtyp lysC Gen und dem mutierten Gen lysC thr311ile deletiert haben. Während der homologen Rekombination kann entweder das Wildtyp Gen oder das mutierte Gen zusammen mit dem sacB Gen deletiert werden. Wenn das sacB 15 Gen zusammen mit dem Wildtyp Gen entfernt wird, resultiert eine mutierte Transformante.

Anwachsende Kolonien wurden gepickt, und auf eine Kanamycin-sensitiven Phänotyp hin untersucht. Klone mit deletiertem SacB Gen müssen gleichzeitig Kanamycin-sensitives Wachstumsverhalten zeigen. Solche Kan-sensitiven Klone wurde im einem Schüttelkolben auf ihre Lysin-Produktivität hin untersucht (siehe Beispiel 6). Zum Vergleich wurde der nichtbehandelte Stamm 20 LU1479 angezogen. Klone mit einer gegenüber der Kontrolle erhöhten Lysin-Produktion wurden selektiert, chromosomale DNA wurde gewonnen und der entsprechende Bereich des lysC Gens wurde durch eine PCR-Reaktion amplifiziert und sequenziert. Ein solcher Klon mit der Eigenschaft erhöhter Lysin-Synthese und nachgewiesener Mutation in lysC an der Stelle 932 wurde 25 mit LU1479 lysC 311ile bezeichnet).

Beispiel 5: Herstellung Ethionin-resistenter *C. glutamicum* Stämme

30 Im zweiten Schritt der Stammkonstruktion wurde der erhaltene Stamm LU1479 lysC 311ile (Beispiel 4) behandelt, um eine Ethionin-Resistenz (Kase, H. Nakayama K. Agr. Biol. Chem. 39 153-106 1975 L-methionine production by methionine analog-resistant mutants of *Corynebacterium glutamicum*) zu induzieren: Eine Übernachtkultur in BHI-Medium (Difco) wurde in Citratpuffer (50mM pH 5,5) gewaschen und bei 30°C für 20 min mit N-Methyl-nitrosoguanidin (10mg/ml in 35 50mM Citrat pH5,5) behandelt. Nach der Behandlung mit dem chemischen Mutagen N-Methyl-

nitrosoguanidin wurden die Zellen gewaschen (Citratpuffer 50mM pH 5,5) und auf ein Medium plattiert, das aus folgenden Komponenten, berechnet auf 500ml, zusammengesetzt war: 10g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5g KH_2PO_4 , 0,5g K_2HPO_4 , 0,125g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 21g MOPS, 50mg CaCl_2 , 15mg Proteokatechuat, 0,5mg Biotin, 1mg Thiamin, 5g/l D,L-Ethionin (Sigma Chemicals Deutschland),

5 pH 7,0. Außerdem enthielt das Medium 0,5ml einer Spurensalzlösung aus: 10g/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1g/l $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,1g/l $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,02g/l CuSO_4 , 0,002g/l $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Alle Salze wurden in 0,1M HCl gelöst. Das fertig zusammengestellte Medium wurde sterilfiltriert und nach Zugabe von 40ml steriler 50% Glucoselösung, mit flüssigem steriles Agar in einer Endkonzentration von 1,5% Agar versetzt und in Kulturschalen ausgegossen.

10

Auf Platten mit dem beschriebenen Medium wurden mutagenisierte Zellen aufgebracht und 3-7 Tage bei 30°C inkubiert. Erhaltene Klone wurden isoliert, mindestens einmal auf dem Selektionsmedium vereinzelt und dann auf ihre Methionin-Produktivität in einem Schüttelkolben in Medium II untersucht (siehe Beispiel 6

15

Beispiel 6: Herstellung von Methionin mit dem Stamm LU1479 lysC 311ile ET-16.

Die in Beispiel 5 hergestellten Stämme wurden auf einer Agar-Platte mit CM-Medium für 2 Tag bei 30°C angezogen.

20 CM-Agar:

10,0 g/l D-Glucose, 2,5 g/l NaCl, 2,0 g/l Harnstoff, 10,0 g/l Bacto Pepton (Difco), 5,0 g/l Yeast Extract (Difco), 5,0 g/l Beef Extract (Difco), 22,0 g/l Agar (Difco), autoklaviert (20 min., 121°C)

25 Anschließend wurden die Zellen von der Platte abgekratzt und in Saline resuspendiert. Für die Hauptkultur wurden 10 ml Medium II und 0,5 g autoklaviertes CaCO_3 (Riedel de Haen) in einem 100 ml Erlenmeyerkolben mit der Zellsuspension bis zu einer OD600nm von 1,5 beimpft und für 72h auf einem Orbitalschüttler mit 200 Upm bei 30°C inkubiert.

30 Medium II:

40g/l Saccharose

60g/l Melasse (auf 100% Zuckergehalt berechnet)

10g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

0.4g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

35 0.6g/l KH_2PO_4

0.3mg/l Thiamin*HCl

1mg/l Biotin (aus einer 1 mg/ml steril filtrierten Stammlösung die mit NH₄OH auf pH 8,0 eingestellt wurde)

2mg/l FeSO₄

5 2mg/l MnSO₄

mit NH₄OH auf pH 7,8 eingestellt, autoklaviert (121°C, 20 min). Zusätzlich wird Vitamin B12 (Hydroxycobalamin Sigma Chemicals) aus einer Stammlösung (200 µg/ml, steril filtriert) bis zu einer Endkonzentration von 100 µg/l zugegeben

10 Gebildetes Methionin, sowie andere Aminosäuren in der Kulturbrühe wurde mit Hilfe der Aminosäuresäure-Bestimmungsmethode von Agilent auf einer Agilent 1100 Series LC System HPLC. Eine Derivatisierung vor der Säulentrennung mit Ortho-Phtalaldehyd erlaubte die Quantifizierung der gebildeten Aminosäuren. Die Auf trennung des Aminosäuregemisch fand auf einer Hypersil AA-Säule (Agilent) statt.

15 Solche Klone wurden isoliert, deren Methionin-Produktivität mindestens doppelt so hoch war, wie die des Ausgangsstamm LU1479 lysC 311ile. Ein solcher Klon wurde für die weiteren Versuche eingesetzt und bekam die Bezeichnung LU1479 lysC 311ile ET-16.

20 **Beispiel 7:** Klonierung von metA aus *Corynebacterium diphtheriae* und Klonierung in das Plasmid pC metA_Cd

Chromosomal DNA von *Corynebacterium diphtheriae* wurde von der American Type Strain Culture Collection (ATCC, Atlanta-USA) mit der Bestellnummer 700971D aus dem Stamm ATCC 25 700971 bezogen.

Mit den Oligonukleotidprimer SEQ ID NO: 67 und SEQ ID NO:68, der chromosomal DNA aus *C. diphtheriae* als Template und Pfu Turbo Polymerase (Fa. Stratagene) wurde mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nach Standardmethoden wie Innis et al. (1990) PCR Protocols.

30 A Guide to Methods and Applications, Academic Press ein DNA Fragment von ca. 1,4 kb amplifiziert, welches das metA Gen inklusive eines nichtkodierenden 5'-Bereiches (Promotorregion) enthält. Das amplifizierte Fragment ist an seinem 5'-Ende von einer Xhol-Restriktionsschnittstelle und am 3'-Ende von einer NdeI- Restriktionsschnittstelle flankiert, welche über die Oligonukleotidprimer eingeführt wurden.

35

SEQ ID NO:67

5'-GAGACTCGAGGTTGGCTGGCATCATAGG -3'

und

SEQ ID NO:68

5'-GAAGAGAGCATATGTCAGCGCTCTAGTTGGTTC -3'

5 Das erhaltene DNA Fragment wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Im Anschluß daran wurde es mit den Restriktionsenzymen Xhol und Ndel (Roche Diagnostics, Mannheim) gespalten und gelelektrophoretisch aufgetrennt. Anschließend wurde das ca. 1,4 kb große DNA Fragment mit GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) aus der Agarose aufgereinigt.

10

Der Vektor pClik5MCS SEQ ID NO: 57, im folgenden pC genannt, wurde mit den Restriktionsenzymen Xhol und Ndel (Roche Diagnostics, Mannheim) geschnitten und ein ca. 5 kb großes 15 Fragment nach elektrophoretischer Auftrennung mit GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit isoliert.

Das Vektorfragment wurde zusammen mit dem PCR-Fragment mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers ligiert und der Ligationssatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

20 25 Die Präparation der Plasmid DNA wurde nach Methoden und mit Materialien der Fa. Quiagen durchgeführt. Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

30 35 Das entstandene Plasmid pC metA_Cd (*Corynebacterium diphtheriae*) ist als SEQ ID NO:69 aufgeführt. Die entsprechende Plasmidkarte ist in Figur 3 dargestellt.

LOCUS pC_metA_Cd 6472 bp DNA circular

FEATURES Location/Qualifiers

35 CDS 313..1416
/vntifkey="4"

/label=metA\Corynebacterium\diphtheriae
CDS 1838..2629
/vntifkey="4"
/label=Kan\R
5 CDS 4910..6031
/vntifkey="4"
/label=Rep\Protein
CDS 3902..4576
/vntifkey="4"
10 CDS /label=ORF1
complement(2896..3756)
/vntifkey="4"
/label=Ori\EC\(\pMB)

15 **Beispiel 8:** Transformation des Stammes LU1479 lysC 311ile ET-16 mit dem Plasmid pC
metA_Cd

Der Stamm LU1479 lysC 311ile ET-16 wurde mit dem Plasmid pC metA_Cd nach der beschriebenen Methode (Liebl, et al. (1989) FEMS Microbiology Letters 53:299-303) transformiert. Die 20 Transformationsmischung wurde auf CM-Platten plattiert, die zusätzlich 20mg/l Kanamycin enthielten, um eine Selektion auf Plasmid-haltige Zellen zu erreichen. Erhaltene Kan-resistente Klone wurden gepickt und vereinzelt. Die Methionin-Produktivität der Klone wurde in einem Schüttelkolbenversuch (s. Beispiel 6) untersucht. Der Stamm LU1479 lysC 311ile ET-16 pC metA_Cd produzierte im Vergleich zu LU1479 lysC 311ile ET-16 signifikant mehr Methionin.

Patentansprüche

1. Verfahren zur fermentativen Herstellung wenigstens einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, welches folgende Schritte umfasst:

5 a) Fermentation einer die gewünschte schwefelhaltige Feinchemikalie produzierenden coryneformen Bakterienkultur, wobei in den coryneformen Bakterien zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz exprimiert wird, welche für ein Protein mit Homoserin-O-Acetyl-Transferase (metA)-Aktivität kodiert;

10 b) Anreicherung der schwefelhaltigen Feinchemikalie im Medium oder in den Zellen der Bakterien, und

c) Isolieren der schwefelhaltigen Feinchemikalie.

15 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die schwefelhaltige Feinchemikalie L-Methionin umfasst.

3. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die heterologe metA-kodierende Nukleotidsequenz zur metA-kodierenden Sequenz aus *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 eine Sequenzhomologie vom weniger als 100% aufweist.

20 4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die metA-kodierende Sequenz aus einem der folgenden Organismen abgeleitet ist:

<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	ATCC 14779
<i>Mycobacterium leprae</i>	ATCC 43910
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	ATCC 25584
<i>Chlorobium tepidum</i>	ATCC 49652
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 17933
<i>Caulobacter crescentus</i>	ATCC 19089
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 53420
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 53414
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525
<i>Burkholderia cepacia</i>	ATCC 25416
<i>Nitrosomonas europaea</i>	ATCC 19718
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 51907
<i>Halobacterium</i> sp NRC1	ATCC 33170
<i>Thermus thermophilus</i>	ATCC 27634
<i>Deinococcus radiodurans</i>	ATCC 13939
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 10751
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	ATCC 24969
<i>Xylella fastidiosa</i>	ATCC 35881
<i>Emericella nidulans</i>	ATCC 36104
<i>Mesorhizobium loti</i>	ATCC 35173
<i>Acremonium crysogenum</i>	ATCC 11550

<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 47054
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 35556

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die metA-kodierende Sequenz eine kodierende Sequenz gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, und 45 oder eine dazu homologe Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metA-Aktivität kodiert, umfasst.
10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die metA-kodierende Sequenz für ein Protein mit metA-Aktivität kodiert, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, und 46 oder eine dazu homologe Aminosäuresequenz, welche für ein Protein mit metA-Aktivität steht, umfasst.
15. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die kodierende metA-Sequenz eine in coryneformen Bakterien replizierbare oder eine stabil in das Chromosom integrierte DNA oder eine RNA ist.
20. Verfahren gemäß Anspruch 7, wobei man
 - a) einen mit einem Plasmidvektor transformierten Bakterienstamm einsetzt der wenigstens eine Kopie der kodierenden metA-Sequenz unter der Kontrolle regulativer Sequenzen trägt, oder
 - b) einen Stamm einsetzt, in dem die kodierende metA-Sequenz in das Chromosom des Bakteriums integriert wurde
25. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die kodierende metA-Sequenz überexprimiert wird.
30. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Bakterien fermentiert, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verstärkt ist oder derart mutiert ist, dass es durch Stoffwechselmetabolite nicht in seiner Aktivität beeinflusst wird.

11. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Bakterien fermentiert, in denen wenigstens ein Stoffwechselweg zumindest teilweise ausgeschaltet ist, der die Bildung der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verringert.

5 12. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- a) dem für eine Aspartatkinase kodierenden Gen lysC,
- b) dem für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierenden Gen gap,
- 10 c) dem für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierenden Gen pgk,
- d) dem für die Pyruvat Carboxylase kodierenden Gen pyc,
- e) dem für die Triosephosphat Isomerase kodierenden Gen tpi,
- f) dem für die Methylentetrahydrofolat Reduktase kodierenden Gen metF,
- 15 g) dem für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierenden Gen metB,
- h) dem für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierenden Gen metC,
- i) dem für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierenden Gen glyA,
- j) dem für die O-Acetylhomoserin-Sulphydrylase kodierenden Gen metY,
- 20 k) dem für die Vitamin B12 abhängige Methionin-Synthase kodierenden Gen metH,
- l) dem für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierenden gen serC,
- m) dem serB Gen, das für die Phosphoserin-Phosphatase kodiert,
- n) dem cysE Gen, das für die Serine Acetyl-Transferase kodiert, und
- 25 o) dem hom Gen, das eine Homoserin-Dehydrogenase kodiert,

überexprimiert oder so mutiert ist, dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch Stoffwechselmetabolite in ihrer Aktivität beeinflusst werden.

25 13. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man coryneformen Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- a) dem für die Homoserine-Kinase kodierenden Gen thrB,
- b) dem für die Threonin Dehydratase kodierenden Gen ilvA,
- 30 c) dem für die Threonin Synthase kodierenden Gen thrC
- d) dem für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierenden Gen ddh
- e) dem für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierenden Gen pck,
- f) dem für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierenden Gen pgi,
- 35 g) dem für die Pyruvat-Oxidase kodierenden Gen poxB,
- h) dem für die Dihydrodipicolinat Synthase kodiernden Gen dapA,

- i) dem für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodiernden Gen dapB; oder
- j) dem für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodiernden Gen

durch Veränderung der Expressionsrate oder durch Einführung einer gezielten Mutation
5 abschwächt ist.

- 14. Verfahren gemäß einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Mikroorganismen der Art *Corynebacterium glutamicum* einsetzt.
- 10 15. Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin haltigen Tierfuttermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, welches folgende Schritte umfasst
 - a) Kultivierung und Fermentation eines L-Methionin produzierenden Mikroorganismus in einem Fermentationsmedium;
 - b) Entfernung von Wasser aus der L-Methionin haltigen Fermentationsbrühe;
 - 15 c) Entfernung der während der Fermentation gebildeten Biomasse in einer Menge von 0 bis 100 Gew.-%; und
 - d) Trocknung der gemäß b) und/oder c) erhaltenen Fermentationsbrühe, um das Tierfuttermittel-Additiv in der gewünschten Pulver- oder Granulatform zu erhalten.
- 20 16. Verfahren gemäß Anspruch 15, wobei man Mikroorganismen gemäß der Definition in einem der Ansprüche 1 bis 14 einsetzt.

Fig. 1

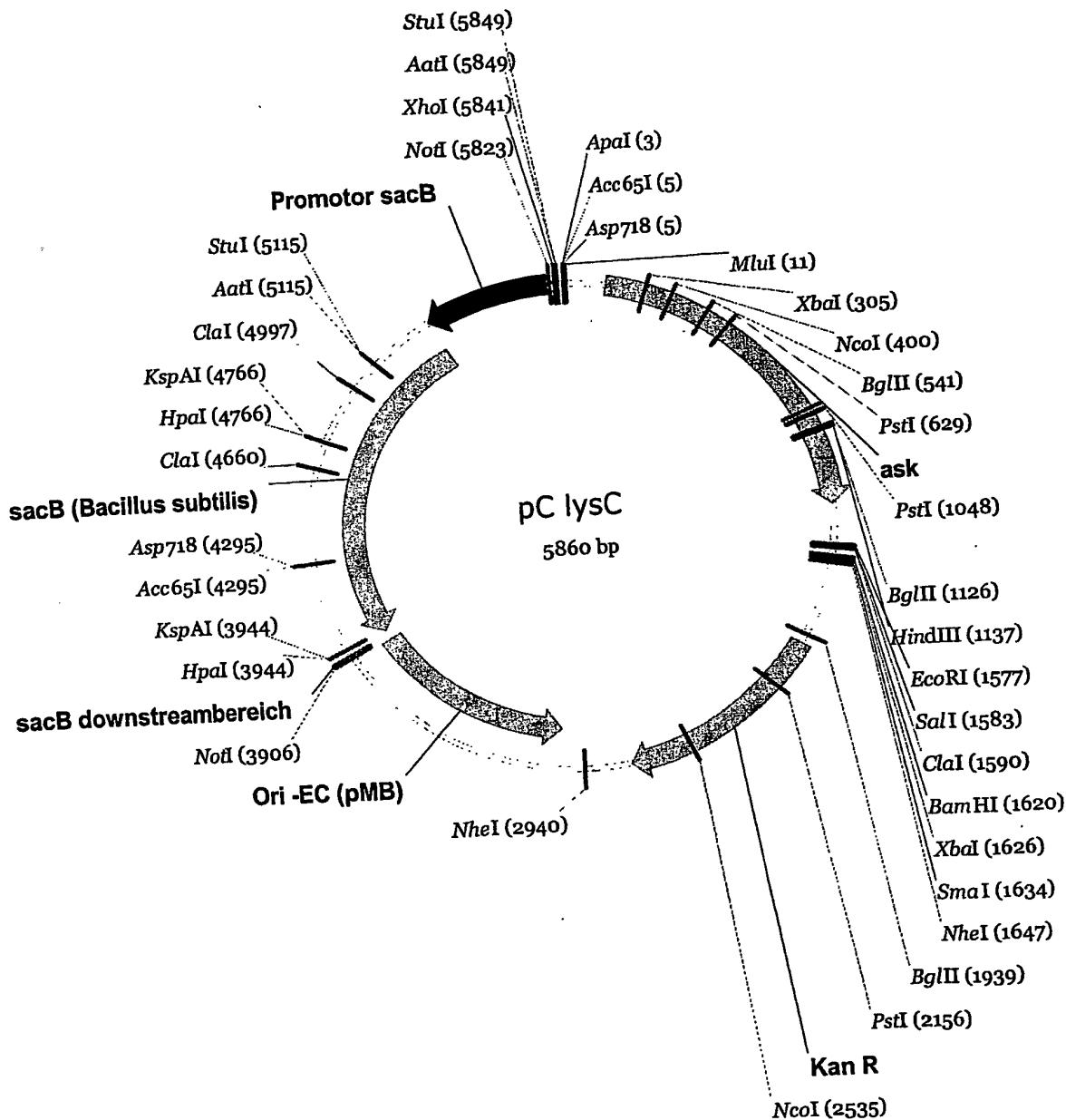


Fig. 2

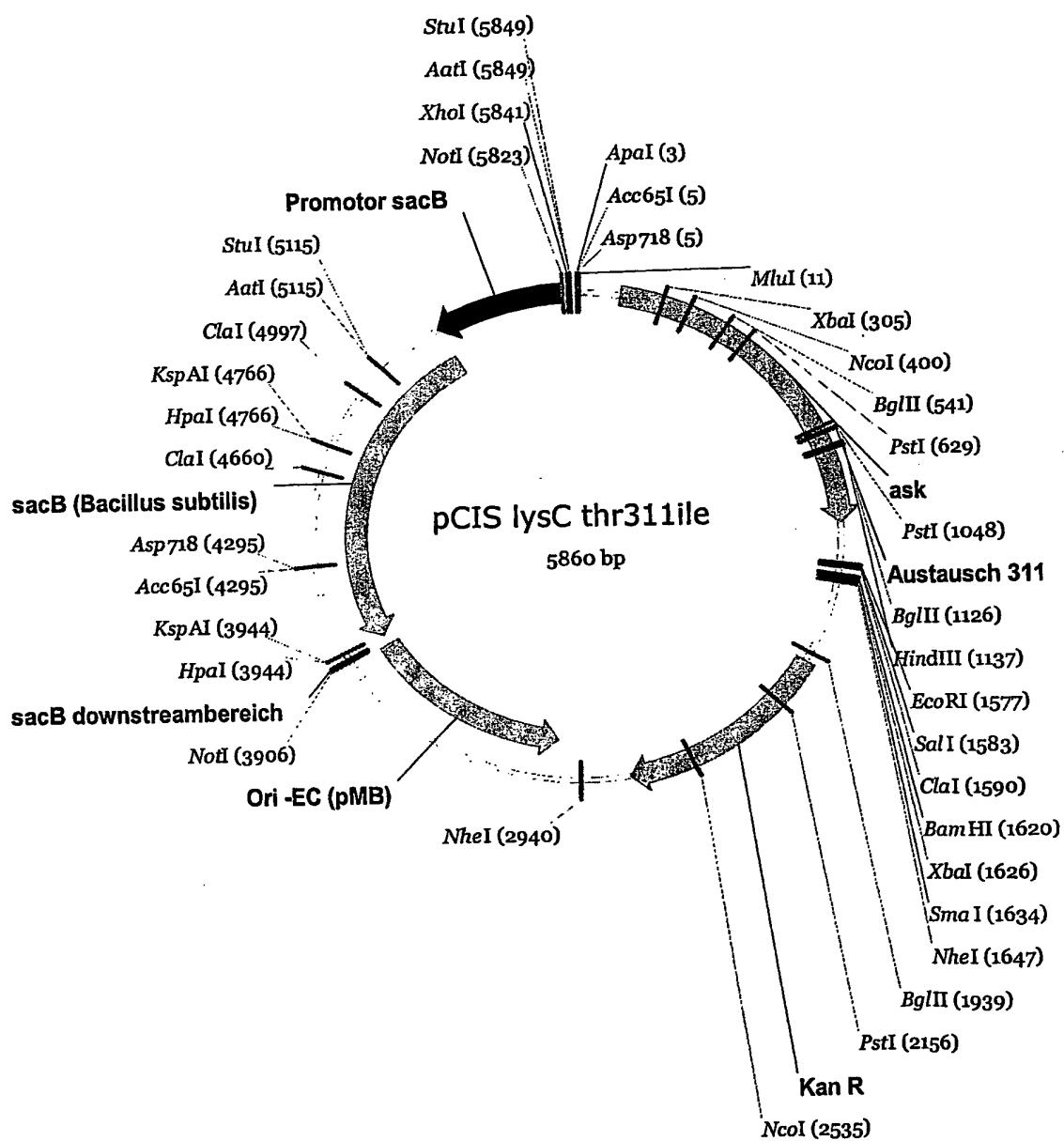
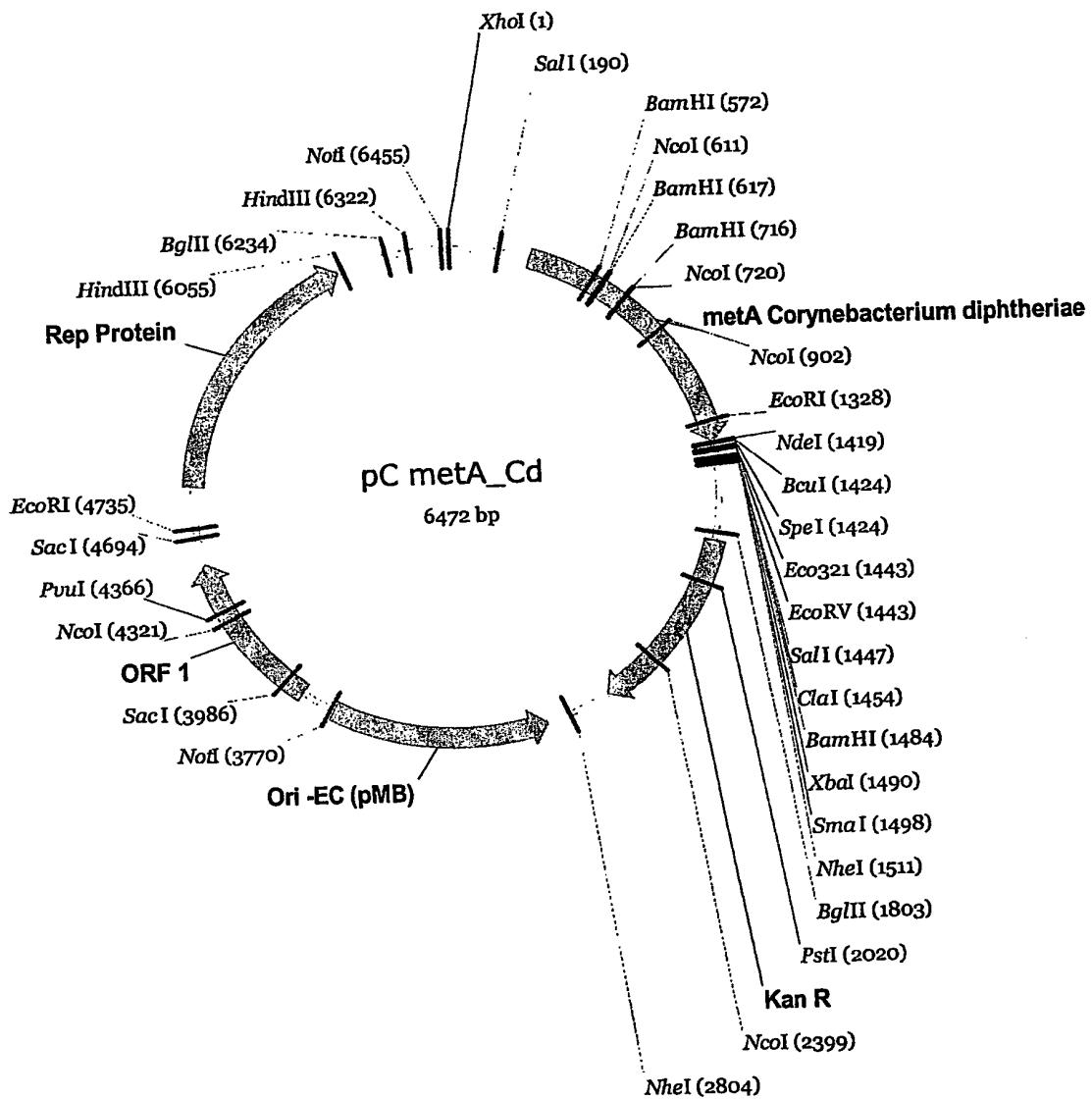


Fig. 3



SEQUENZPROTOKOLL

<110> BASF Aktiengesellschaft

<120> MetA

<130> M/43127

<140>

<141>

<160> 58

<210> 1

<211> 1104

<212> DNA

<213> Corynebacterium diphtheriae

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1101)

<223> RDI00386

<400> 1 48
 atg ctc acc acc aca ggg acg ctc acg cac caa aaa atc gga gac ttt
 Met Leu Thr Thr Thr Gly Thr Leu Thr His Gln Lys Ile Gly Asp Phe
 1 5 10 15

tac acc gaa gcc gga gcg acg ctt cac gac gta acc atc gcc tac caa 96
 Tyr Thr Glu Ala Gly Ala Thr Leu His Asp Val Thr Ile Ala Tyr Gln
 20 25 30

gca tgg ggc cac tac acc ggc acc aat ctc atc gtt ctc gaa cat gcc 144
 Ala Trp Gly His Tyr Thr Gly Thr Asn Leu Ile Val Leu Glu His Ala
 35 40 45

ctg acc ggc gac tct aac gct att tca tgg tgg gac gga ctg att ggc 192
 Leu Thr Gly Asp Ser Asn Ala Ile Ser Trp Trp Asp Gly Leu Ile Gly
 50 55 60

cct ggc aaa gca ctc gac acc aac cgc tac tgc atc cta tgc acc aac 240
 Pro Gly Lys Ala Leu Asp Thr Asn Arg Tyr Cys Ile Leu Cys Thr Asn
 65 70 75 80

gtg ctc gga gga tgc aaa gga tcc acc gga ccg agc agt cca cac cca 288
 Val Leu Gly Cys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ser Ser Pro His Pro
 85 90 95

gac gga aaa cca tgg gga tcc aga ttt cca gcc ctt tca atc cgt gac 336
 Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Ala Leu Ser Ile Arg Asp
 100 105 110

ctt gtc aat gcc gaa aaa caa ctt ttc gac cac ctc ggc atc aat aaa 384
 Leu Val Asn Ala Glu Lys Gln Leu Phe Asp His Leu Gly Ile Asn Lys
 115 120 125

att cac gca atc atc ggc gga tcc atg gga ggc gca cgc acc ctc gaa 432
 Ile His Ala Ile Ile Gly Gly Ser Met Gly Gly Ala Arg Thr Leu Glu
 130 135 140

tgg gct gca ctc cac cca cac atg atg acg act gga ttc gtc ata gca 480
 Trp Ala Ala Leu His Pro His Met Met Thr Thr Gly Phe Val Ile Ala

145	150	155	160	
gtc tca gca cgc gca agc gct tgg caa atc ggt att caa act gca caa				528
Val Ser Ala Arg Ala Ser Ala Trp Gln Ile Gly Ile Gln Thr Ala Gln				
165	170	175		
atc agc gcc ata gaa ctc gac ccc cac tgg aac ggc ggc gat tac tac				576
Ile Ser Ala Ile Glu Leu Asp Pro His Trp Asn Gly Gly Asp Tyr Tyr				
180	185	190		
agc ggt cac gca cca tgg gaa gga atc gcc gcc gct cgc cggt atc gcc				624
Ser Gly His Ala Pro Trp Glu Gly Ile Ala Ala Arg Arg Ile Ala				
195	200	205		
cac ctc acc tat cgc ggc gaa cta gaa ata gac gaa cga ttc ggc act				672
His Leu Thr Tyr Arg Gly Glu Leu Glu Ile Asp Glu Arg Phe Gly Thr				
210	215	220		
tcc gca caa cac ggt gaa aac cca ctc ggc ccc ttc cga gat cca cat				720
Ser Ala Gln His Gly Glu Asn Pro Leu Gly Pro Phe Arg Asp Pro His				
225	230	235	240	
caa cgt ttt gcg gtc acg agc tac ctc caa cac caa ggc atc aaa ctc				768
Gln Arg Phe Ala Val Thr Ser Tyr Leu Gln His Gln Gly Ile Lys Leu				
245	250	255		
gct caa cga ttc gat gca ggt agt tac gtc gtg ctt acc gaa gcc ctc				816
Ala Gln Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Val Leu Thr Glu Ala Leu				
260	265	270		
aat cgt cat gac atc gga cgc ggc cga ggc gga ctc aac aaa gcc ctc				864
Asn Arg His Asp Ile Gly Arg Gly Arg Gly Leu Asn Lys Ala Leu				
275	280	285		
agc gca atc aca gtc ccc atc atg att gct ggc gtt gat acc gat att				912
Ser Ala Ile Thr Val Pro Ile Met Ile Ala Gly Val Asp Thr Asp Ile				
290	295	300		
ctc tac ccc tat cac cag caa gaa cac cta tca cga aat cta ggc aac				960
Leu Tyr Pro Tyr His Gln Gln Glu His Leu Ser Arg Asn Leu Gly Asn				
305	310	315	320	
cta ctc gct atg gca aaa atc agc tca cca gta ggc cac gac gct ttc				1008
Leu Leu Ala Met Ala Lys Ile Ser Ser Pro Val Gly His Asp Ala Phe				
325	330	335		
ctc aca gaa ttc cga caa atg gag cga atc cta aga cat ttc atg gag				1056
Leu Thr Glu Phe Arg Gln Met Glu Arg Ile Leu Arg His Phe Met Glu				
340	345	350		
ctt tcg gaa gga atc gac gat tcc ttc cga acc aaa cta gag cgc				1101
Leu Ser Glu Gly Ile Asp Asp Ser Phe Arg Thr Lys Leu Glu Arg				
355	360	365		
tga				1104

<210> 2
 <211> 367
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium diphtheriae
 <400> 2

Met Leu Thr Thr Gly Thr Leu Thr His Gln Lys Ile Gly Asp Phe
1 5 10 15

Tyr Thr Glu Ala Gly Ala Thr Leu His Asp Val Thr Ile Ala Tyr Gln
20 25 30

Ala Trp Gly His Tyr Thr Gly Thr Asn Leu Ile Val Leu Glu His Ala
35 40 45

Leu Thr Gly Asp Ser Asn Ala Ile Ser Trp Trp Asp Gly Leu Ile Gly
50 55 60

Pro Gly Lys Ala Leu Asp Thr Asn Arg Tyr Cys Ile Leu Cys Thr Asn
65 70 75 80

Val Leu Gly Gly Cys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ser Ser Pro His Pro
85 90 95

Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Ala Leu Ser Ile Arg Asp
100 105 110

Leu Val Asn Ala Glu Lys Gln Leu Phe Asp His Leu Gly Ile Asn Lys
115 120 125

Ile His Ala Ile Ile Gly Gly Ser Met Gly Ala Arg Thr Leu Glu
130 135 140

Trp Ala Ala Leu His Pro His Met Met Thr Thr Gly Phe Val Ile Ala
145 150 155 160

Val Ser Ala Arg Ala Ser Ala Trp Gln Ile Gly Ile Gln Thr Ala Gln
165 170 175

Ile Ser Ala Ile Glu Leu Asp Pro His Trp Asn Gly Gly Asp Tyr Tyr
180 185 190

Ser Gly His Ala Pro Trp Glu Gly Ile Ala Ala Ala Arg Arg Ile Ala
195 200 205

His Leu Thr Tyr Arg Gly Glu Leu Glu Ile Asp Glu Arg Phe Gly Thr
210 215 220

Ser Ala Gln His Gly Glu Asn Pro Leu Gly Pro Phe Arg Asp Pro His
225 230 235 240

Gln Arg Phe Ala Val Thr Ser Tyr Leu Gln His Gln Gly Ile Lys Leu
245 250 255

Ala Gln Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Val Leu Thr Glu Ala Leu
260 265 270

Asn Arg His Asp Ile Gly Arg Gly Arg Gly Leu Asn Lys Ala Leu
275 280 285

Ser Ala Ile Thr Val Pro Ile Met Ile Ala Gly Val Asp Thr Asp Ile
290 295 300

Leu Tyr Pro Tyr His Gln Gln Glu His Leu Ser Arg Asn Leu Gly Asn
305 310 315 320

Leu Leu Ala Met Ala Lys Ile Ser Ser Pro Val Gly His Asp Ala Phe
325 330 335

Leu Thr Glu Phe Arg Gln Met Glu Arg Ile Leu Arg His Phe Met Glu
 340 345 350

Leu Ser Glu Gly Ile Asp Asp Ser Phe Arg Thr Lys Leu Glu Arg
 355 360 365

<210> 3
 <211> 1149
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium leprae*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1146)
 <223> RML02951

<220>
 <221> unsure

<222> 224 .. 224
 <223> All occurrences of n indicate any nucleotide

<400> 3
 atg aca atc tcc aag gtc cct acc cag aag ctg ccg gcc gaa ggc gag 48
 Met Thr Ile Ser Lys Val Pro Thr Gln Lys Leu Pro Ala Glu Gly Glu
 1 5 10 15

gtc ggc ttg gtc gac atc ggc tca ctt acc acc gaa agc ggt gcc gtc 96
 Val Gly Leu Val Asp Ile Gly Ser Leu Thr Thr Glu Ser Gly Ala Val
 20 25 30

atc gac gat gtc tgc atc gcc gtt cag cgc tgg ggg gaa ttg tcg ccc 144
 Ile Asp Asp Val Cys Ile Ala Val Gln Arg Trp Gly Glu Leu Ser Pro
 35 40 45

acg cga gac aac gta gtg atg gta ctg cat gca ctc acc ggt gac tcg 192
 Thr Arg Asp Asn Val Val Met Val Leu His Ala Leu Thr Gly Asp Ser
 50 55 60

cac atc acc ggg ccc gcc gga ccg gga cat cnc aca ccc ggc tgg tgg 240
 His Ile Thr Gly Pro Ala Gly Pro Gly His Xaa Thr Pro Gly Trp Trp
 65 70 75 80

gac tgg ata gct gga ccg ggt gca cca atc gac acc aac cgc tgg tgc 288
 Asp Trp Ile Ala Gly Pro Gly Ala Pro Ile Asp Thr Asn Arg Trp Cys
 85 90 95

gcg ata gcc acc aac gtg ctg ggc ggt tgc cgt ggc tcc acc ggc cct 336
 Ala Ile Ala Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Arg Gly Ser Thr Gly Pro
 100 105 110

agt tcg ctt gcc cgc gac gga aag cct tgg ggt tca aga ttt ccg ctg 384
 Ser Ser Leu Ala Arg Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Leu
 115 120 125

ata tct ata cgc gac cag gta gag gca gat atc gct gca ctg gcc gcc 432
 Ile Ser Ile Arg Asp Gln Val Glu Ala Asp Ile Ala Ala Leu Ala Ala
 130 135 140

atg gga att aca aag gtt gcc gcc gtc gtt gga gga tct atg ggc ggg 480
 Met Gly Ile Thr Lys Val Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly

145	150	155	160	
gct cgt gca ctg gaa tgg atc atc ggc cac ccg gac caa gtc cggt gcc Ala Arg Ala Leu Glu Trp Ile Ile Gly His Pro Asp Gln Val Arg Ala				528
165	170	175		
ggg ctg ttg ctg gcg gtc ggt gtg cgc gcc acc gcc gac cag atc ggc Gly Leu Leu Ala Val Gly Val Arg Ala Thr Ala Asp Gln Ile Gly				576
180	185	190		
acc caa acc acc caa atc gca gcc atc aag aca gac ccg aac tgg caa Thr Gln Thr Thr Gln Ile Ala Ala Ile Lys Thr Asp Pro Asn Trp Gln				624
195	200	205		
ggc ggt gac tac tac gag aca ggg agg gca cca gag aac ggc ttg aca Gly Gly Asp Tyr Tyr Glu Thr Gly Arg Ala Pro Glu Asn Gly Leu Thr				672
210	215	220		
att gcc cgc cgc ttc gcc cac ctg acc tac cgc agc gag gtc gag ctc Ile Ala Arg Arg Phe Ala His Leu Thr Tyr Arg Ser Glu Val Glu Leu				720
225	230	235	240	
gac acc cgg ttt gcc aac aac aac caa ggc aat gag gac ccg gcg acg Asp Thr Arg Phe Ala Asn Asn Gln Gly Asn Glu Asp Pro Ala Thr				768
245	250	255		
ggc ggg cgt tac gca gtg cag agt tac cta gag cac cag ggt gac aag Gly Gly Arg Tyr Ala Val Gln Ser Tyr Leu Glu His Gln Gly Asp Lys				816
260	265	270		
cta ttg gcc cgc ttt gac gca ggc agc tac gtg gtc ttg acc gaa acg Leu Leu Ala Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Val Leu Thr Glu Thr				864
275	280	285		
ctg aac agc cac gac gtt ggc cgg ggc cgc gga ggg atc ggt aca gcg Leu Asn Ser His Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Ile Gly Thr Ala				912
290	295	300		
ctg cgc ggg tgc ccg gta ccg gtg gtg gtg ggt ggc att acc tcg gat Leu Arg Gly Cys Pro Val Pro Val Val Gly Gly Ile Thr Ser Asp				960
305	310	315	320	
ccg ctc tac cca ctg cgc ttg cag cag gag ctg gcc gag atg ctg ccg Arg Leu Tyr Pro Leu Arg Leu Gln Gln Glu Leu Ala Glu Met Leu Pro				1008
325	330	335		
ggc tgc acc ggg ctg cag gtt gta gac tcc acc tac ggg cac gac ggc Gly Cys Thr Gly Leu Gln Val Val Asp Ser Thr Tyr Gly His Asp Gly				1056
340	345	350		
ttc ctg gtg gaa tcc gag gcc gtc ggc aaa ttg atc cgt caa acc ctc Phe Leu Val Glu Ser Glu Ala Val Gly Lys Leu Ile Arg Gln Thr Leu				1104
355	360	365		
gaa ttg gcc gac gtg ggt tcc aag gaa gac gcg tgc tgc caa Glu Leu Ala Asp Val Gly Ser Lys Glu Asp Ala Cys Ser Gln				1146
370	375	380		
tga				1149

<211> 382
<212> PRT
<213> *Mycobacterium leprae*

<220>
<221> unsure
<222> 75 .. 75
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<400> 4

Met Thr Ile Ser Lys Val Pro Thr Gln Lys Leu Pro Ala Glu Gly Glu
1 5 10 15

Val Gly Leu Val Asp Ile Gly Ser Leu Thr Thr Glu Ser Gly Ala Val
20 25 30

Ile Asp Asp Val Cys Ile Ala Val Gln Arg Trp Gly Glu Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Arg Asp Asn Val Val Met Val Leu His Ala Leu Thr Gly Asp Ser
50 55 60

His Ile Thr Gly Pro Ala Gly Pro Gly His Xaa Thr Pro Gly Trp Trp
65 70 75 80

Asp Trp Ile Ala Gly Pro Gly Ala Pro Ile Asp Thr Asn Arg Trp Cys
85 90 95

Ala Ile Ala Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Arg Gly Ser Thr Gly Pro
100 105 110

Ser Ser Leu Ala Arg Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Leu
115 120 125

Ile Ser Ile Arg Asp Gln Val Glu Ala Asp Ile Ala Ala Leu Ala Ala
130 135 140

Met Gly Ile Thr Lys Val Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly
145 150 155 160

Ala Arg Ala Leu Glu Trp Ile Ile Gly His Pro Asp Gln Val Arg Ala
165 170 175

Gly Leu Leu Leu Ala Val Gly Val Arg Ala Thr Ala Asp Gln Ile Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Thr Gln Ile Ala Ala Ile Lys Thr Asp Pro Asn Trp Gln
195 200 205

Gly Gly Asp Tyr Tyr Glu Thr Gly Arg Ala Pro Glu Asn Gly Leu Thr
210 215 220

Ile Ala Arg Arg Phe Ala His Leu Thr Tyr Arg Ser Glu Val Glu Leu
225 230 235 240

Asp Thr Arg Phe Ala Asn Asn Gln Gly Asn Glu Asp Pro Ala Thr
245 250 255

Gly Gly Arg Tyr Ala Val Gln Ser Tyr Leu Glu His Gln Gly Asp Lys
260 265 270

Leu Leu Ala Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Val Leu Thr Glu Thr
275 280 285

Leu Asn Ser His Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Gly Ile Gly Thr Ala
 290 295 300

Leu Arg Gly Cys Pro Val Pro Val Val Val Gly Gly Ile Thr Ser Asp
 305 310 315 320

Arg Leu Tyr Pro Leu Arg Leu Gln Gln Glu Leu Ala Glu Met Leu Pro
 325 330 335

Gly Cys Thr Gly Leu Gln Val Val Asp Ser Thr Tyr Gly His Asp Gly
 340 345 350

Phe Leu Val Glu Ser Glu Ala Val Gly Lys Leu Ile Arg Gln Thr Leu
 355 360 365

Glu Leu Ala Asp Val Gly Ser Lys Glu Asp Ala Cys Ser Gln
 370 375 380

<210> 5

<211> 1140

<212> DNA

<213> *Mycobacterium tuberculosis*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1137)

<223> RMTB03565

<400> 5

atg acg atc tcc gat gta ccc acc cag acg ctg ccc gcc gaa ggc gaa 48
 Met Thr Ile Ser Asp Val Pro Thr Gln Thr Leu Pro Ala Glu Gly Glu
 1 5 10 15

atc ggc ctg ata gac gtc ggc tcg ctg caa ctg gaa agc ggg gcg gtg 96
 Ile Gly Leu Ile Asp Val Gly Ser Leu Gln Leu Glu Ser Gly Ala Val
 20 25 30

atc gac gat gtc tgt atc gcc gtg caa cgc tgg ggc aaa ttg tcg ccc 144
 Ile Asp Asp Val Cys Ile Ala Val Gln Arg Trp Gly Lys Leu Ser Pro
 35 40 45

gca cgg gac aac gtg gtg gtc ttg cac gcg ctc acc ggc gac tcg 192
 Ala Arg Asp Asn Val Val Val Leu His Ala Leu Thr Gly Asp Ser
 50 55 60

cac atc act gga ccc gcc gga ccc ggc cac ccc acc ccc ggc tgg tgg 240
 His Ile Thr Gly Pro Ala Gly Pro Gly His Pro Thr Pro Gly Trp Trp
 65 70 75 80

gac ggg gtg gcc ggg ccg agt gcg ccg att gac acc acc cgc tgg tgc 288
 Asp Gly Val Ala Gly Pro Ser Ala Pro Ile Asp Thr Thr Arg Trp Cys
 85 90 95

gcg gta gct acc aat gtg ctc ggc ggc tgc cgc ggc tcc acc ggg ccc 336
 Ala Val Ala Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Arg Gly Ser Thr Gly Pro
 100 105 110

agc tcg ctt gcc cgc gac gga aag cct tgg ggc tca aga ttt ccg ctg 384
 Ser Ser Leu Ala Arg Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Leu
 115 120 125

atc tcg ata cgt gac cag gtg cag gcg gac gtc gcg gcg ctg gcc gcg	432
Ile Ser Ile Arg Asp Gln Val Gln Ala Asp Val Ala Ala Leu Ala Ala	
130 135 140	
ctg ggc atc acc gag gtc gcc gtc gtc ggc ggc tcc atg ggc ggc	480
Leu Gly Ile Thr Glu Val Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly	
145 150 155 160	
gcc cgg gcc ctg gaa tgg gtg gtc ggc tac ccg gat cgg gtc cga gcc	528
Ala Arg Ala Leu Glu Trp Val Val Gly Tyr Pro Asp Arg Val Arg Ala	
165 170 175	
gga ttg ctg ctg gcg gtc ggt gcg cgt gcc acc gca gac cag atc ggc	576
Gly Leu Leu Ala Val Gly Ala Arg Ala Thr Ala Asp Gln Ile Gly	
180 185 190	
acg cag aca acg caa atc gcg gcc atc aaa gcc gac ccg gac tgg cag	624
Thr Gln Thr Gln Ile Ala Ala Ile Lys Ala Asp Pro Asp Trp Gln	
195 200 205	
agc ggc gac tac cac gag acg ggg agg gca cca gac gcc ggg ctg cga	672
Ser Gly Asp Tyr His Glu Thr Gly Arg Ala Pro Asp Ala Gly Leu Arg	
210 215 220	
ctc gcc cgc cgc ttc gcg cac ctc acc tac cgc ggc gag atc gag ctc	720
Leu Ala Arg Arg Phe Ala His Leu Thr Tyr Arg Gly Glu Ile Glu Leu	
225 230 235 240	
gac acc cgg ttc gcc aac cac aac cag ggc aac gag gat ccg acg gcc	768
Asp Thr Arg Phe Ala Asn His Asn Gln Gly Asn Glu Asp Pro Thr Ala	
245 250 255	
ggc ggg cgc tac gcg gtg caa agt tat ctg gaa cac caa gga gac aaa	816
Gly Gly Arg Tyr Ala Val Gln Ser Tyr Leu Glu His Gln Gly Asp Lys	
260 265 270	
ctg tta tcc cgg ttc gac gcc ggc agc tac gtg att ctc acc gag gcg	864
Leu Leu Ser Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Ile Leu Thr Glu Ala	
275 280 285	
ctc aac agc cac gac gtc ggc cgc ggc cgc ggc ggg gtc tcc gcg gct	912
Leu Asn Ser His Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Val Ser Ala Ala	
290 295 300	
ctg cgc gcc tgc ccg gtg ccg gtg gtg ggc ggc atc acc tcc gac	960
Leu Arg Ala Cys Pro Val Pro Val Val Gly Gly Ile Thr Ser Asp	
305 310 315 320	
cgg ctc tac ccg ctg cgc ctg cag cag gag ctg gcc gac ctg ctg ccg	1008
Arg Leu Tyr Pro Leu Arg Leu Gln Gln Glu Leu Ala Asp Leu Leu Pro	
325 330 335	
ggc tgc gcc ggg ctg cga gtc gtc gag tcg gtc tac gga cac gac ggc	1056
Gly Cys Ala Gly Leu Arg Val Val Glu Ser Val Tyr Gly His Asp Gly	
340 345 350	
ttc ctg gtg gaa acc gag gcc gtg ggc gaa ttg atc cgc cag aca ctg	1104
Phe Leu Val Glu Thr Glu Ala Val Gly Glu Leu Ile Arg Gln Thr Leu	
355 360 365	

gga ttg gct gat cgt gaa ggc gcg tgg cgg tga
 Gly Leu Ala Asp Arg Glu Gly Ala Cys Arg Arg
 370 375

1140

<210> 6
 <211> 379
 <212> PRT
 <213> *Mycobacterium tuberculosis*

<400> 6
 Met Thr Ile Ser Asp Val Pro Thr Gln Thr Leu Pro Ala Glu Gly Glu
 1 5 10 15
 Ile Gly Leu Ile Asp Val Gly Ser Leu Gln Leu Glu Ser Gly Ala Val
 20 25 30
 Ile Asp Asp Val Cys Ile Ala Val Gln Arg Trp Gly Lys Leu Ser Pro
 35 40 45
 Ala Arg Asp Asn Val Val Val Leu His Ala Leu Thr Gly Asp Ser
 50 55 60
 His Ile Thr Gly Pro Ala Gly Pro Gly His Pro Thr Pro Gly Trp Trp
 65 70 75 80
 Asp Gly Val Ala Gly Pro Ser Ala Pro Ile Asp Thr Thr Arg Trp Cys
 85 90 95
 Ala Val Ala Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Arg Gly Ser Thr Gly Pro
 100 105 110
 Ser Ser Leu Ala Arg Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ile Ser Ile Arg Asp Gln Val Gln Ala Asp Val Ala Ala Leu Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Ile Thr Glu Val Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly
 145 150 155 160
 Ala Arg Ala Leu Glu Trp Val Val Gly Tyr Pro Asp Arg Val Arg Ala
 165 170 175
 Gly Leu Leu Leu Ala Val Gly Ala Arg Ala Thr Ala Asp Gln Ile Gly
 180 185 190
 Thr Gln Thr Thr Gln Ile Ala Ala Ile Lys Ala Asp Pro Asp Trp Gln
 195 200 205
 Ser Gly Asp Tyr His Glu Thr Gly Arg Ala Pro Asp Ala Gly Leu Arg
 210 215 220
 Leu Ala Arg Arg Phe Ala His Leu Thr Tyr Arg Gly Glu Ile Glu Leu
 225 230 235 240
 Asp Thr Arg Phe Ala Asn His Asn Gln Gly Asn Glu Asp Pro Thr Ala
 245 250 255
 Gly Gly Arg Tyr Ala Val Gln Ser Tyr Leu Glu His Gln Gly Asp Lys
 260 265 270
 Leu Leu Ser Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Ile Leu Thr Glu Ala

275

280

285

Leu Asn Ser His Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Val Ser Ala Ala
 290 295 300

Leu Arg Ala Cys Pro Val Pro Val Val Val Gly Gly Ile Thr Ser Asp
 305 310 315 320

Arg Leu Tyr Pro Leu Arg Leu Gln Gln Glu Leu Ala Asp Leu Leu Pro
 325 330 335

Gly Cys Ala Gly Leu Arg Val Val Glu Ser Val Tyr Gly His Asp Gly
 340 345 350

Phe Leu Val Glu Thr Glu Ala Val Gly Glu Leu Ile Arg Gln Thr Leu
 355 360 365

Gly Leu Ala Asp Arg Glu Gly Ala Cys Arg Arg
 370 375

<210> 7

<211> 972

<212> DNA

<213> Chlorobium tepidum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(969)

<223> RCL01447

<400> 7

gtg agg gtc gct tac cgt acc tgg ggt acg cta aac gca gag aaa agc 48
 Val Arg Val Ala Tyr Arg Thr Trp Gly Thr Leu Asn Ala Glu Lys Ser
 1 5 10 15

aac gtg att ctg gtc tgc cac gcg ctg acc ggc aac gcc gac gcc gac 96
 Asn Val Ile Leu Val Cys His Ala Leu Thr Gly Asn Ala Asp Ala Asp
 20 25 30

agc tgg tgg tgc ggc atg ttc ggt gag gga cgg gcg ttc gac gag act 144
 Ser Trp Trp Cys Gly Met Phe Gly Glu Gly Arg Ala Phe Asp Glu Thr
 35 40 45

cgg gac ttc atc gta tgc agc aac gtg ctt gga agc tgc tac gga acg 192
 Arg Asp Phe Ile Val Cys Ser Asn Val Leu Gly Ser Cys Tyr Gly Thr
 50 55 60

acc ggg ccg atg tcg gtg aat ccg ctg agt ggc agg cac tac ggt ccc 240
 Thr Gly Pro Met Ser Val Asn Pro Leu Ser Gly Arg His Tyr Gly Pro
 65 70 75 80

gat ttt ccg cgc att acc att cgc gac atg gtg aat gtt cag cga tta 288
 Asp Phe Pro Arg Ile Thr Ile Arg Asp Met Val Asn Val Gln Arg Leu
 85 90 95

ttg ctt cgt tcg ctc ggc atc gac cgg atc cgg ctc atc gtt ggt gca 336
 Leu Leu Arg Ser Leu Gly Ile Asp Arg Ile Arg Leu Ile Val Gly Ala
 100 105 110

tcg ctt ggc ggg atg cag gtg ctc gaa tgg ggc gca atg tat ccc gaa 384
 Ser Leu Gly Gly Met Gln Val Leu Glu Trp Gly Ala Met Tyr Pro Glu
 115 120 125

atg gcc ggg gcg ctg atg ccg atg ggc gtt tcg ggt cgt cat tcg gcg	432
Met Ala Gly Ala Leu Met Pro Met Gly Val Ser Gly Arg His Ser Ala	
130 135 140	
tgg tgc atc gcg cag agc gag ggc cag cgg cag gct atc gcc gcc gat	480
Trp Cys Ile Ala Gln Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ala Ile Ala Ala Asp	
145 150 155 160	
gcg gag tgg caa gat ggc tgg tat gat ccg gag gtg cag cca cgc aaa	528
Ala Glu Trp Gln Asp Gly Trp Tyr Asp Pro Glu Val Gln Pro Arg Lys	
165 170 175	
gga ctt gcc gcc gcg cgg atg atg ggc atg tgc acc tac cgc tgc ttc	576
Gly Leu Ala Ala Ala Arg Met Met Ala Met Cys Thr Tyr Arg Cys Phe	
180 185 190	
gag aac tac cag caa cgc ttt ggc cgc aag cag cgc gag gac ggc ttg	624
Glu Asn Tyr Gln Gln Arg Phe Gly Arg Lys Gln Arg Glu Asp Gly Leu	
195 200 205	
ttc gaa gcc gaa agc tac gtg cgt cac cag ggc gac aag ctg gtt ggg	672
Phe Glu Ala Glu Ser Tyr Val Arg His Gln Gly Asp Lys Leu Val Gly	
210 215 220	
cgc ttt gat gca aac acc tat atc acg ctc acc aga gcg atg gac atg	720
Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Ile Thr Leu Thr Arg Ala Met Asp Met	
225 230 235 240	
cac gac ctc ggg cgc gga cgc gac tcc tac gaa gcg gcg ctc gga gcg	768
His Asp Leu Gly Arg Gly Arg Asp Ser Tyr Glu Ala Ala Leu Gly Ala	
245 250 255	
ctg aag atg ccg gtc gag att ctc tcc atc gac tcg gac gtg ctc tat	816
Leu Lys Met Pro Val Glu Ile Leu Ser Ile Asp Ser Asp Val Leu Tyr	
260 265 270	
ccc agg cag gag cag gag gaa ctt gcc cgc ctc att ccc ggc tca cgc	864
Pro Arg Gln Glu Gln Glu Glu Leu Ala Arg Leu Ile Pro Gly Ser Arg	
275 280 285	
ctg ctt ttc ctt gac gaa ccc tat ggc cac gac gcc ttt ctt atc gac	912
Leu Leu Phe Leu Asp Glu Pro Tyr Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Asp	
290 295 300	
acc gag acc gtc agc cgc atg gtc gag ttc aag agg cag ttg ata	960
Thr Glu Thr Val Ser Arg Met Val Cys Glu Phe Lys Arg Gln Leu Ile	
305 310 315 320	
gtt gac aat tga	972
Val Asp Asn	

<210> 8
 <211> 323
 <212> PRT
 <213> Chlorobium tepidum

<400> 8
 Val Arg Val Ala Tyr Arg Thr Trp Gly Thr Leu Asn Ala Glu Lys Ser
 1 5 10 15

Asn Val Ile Leu Val Cys His Ala Leu Thr Gly Asn Ala Asp Ala Asp
20 25 30

Ser Trp Trp Cys Gly Met Phe Gly Glu Gly Arg Ala Phe Asp Glu Thr
35 40 45

Arg Asp Phe Ile Val Cys Ser Asn Val Leu Gly Ser Cys Tyr Gly Thr
50 55 60

Thr Gly Pro Met Ser Val Asn Pro Leu Ser Gly Arg His Tyr Gly Pro
65 70 75 80

Asp Phe Pro Arg Ile Thr Ile Arg Asp Met Val Asn Val Gln Arg Leu
85 90 95

Leu Leu Arg Ser Leu Gly Ile Asp Arg Ile Arg Leu Ile Val Gly Ala
100 105 110

Ser Leu Gly Gly Met Gln Val Leu Glu Trp Gly Ala Met Tyr Pro Glu
115 120 125

Met Ala Gly Ala Leu Met Pro Met Gly Val Ser Gly Arg His Ser Ala
130 135 140

Trp Cys Ile Ala Gln Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ala Ile Ala Ala Asp
145 150 155 160

Ala Glu Trp Gln Asp Gly Trp Tyr Asp Pro Glu Val Gln Pro Arg Lys
165 170 175

Gly Leu Ala Ala Ala Arg Met Met Ala Met Cys Thr Tyr Arg Cys Phe
180 185 190

Glu Asn Tyr Gln Gln Arg Phe Gly Arg Lys Gln Arg Glu Asp Gly Leu
195 200 205

Phe Glu Ala Glu Ser Tyr Val Arg His Gln Gly Asp Lys Leu Val Gly
210 215 220

Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Ile Thr Leu Thr Arg Ala Met Asp Met
225 230 235 240

His Asp Leu Gly Arg Gly Arg Asp Ser Tyr Glu Ala Ala Leu Gly Ala
245 250 255

Leu Lys Met Pro Val Glu Ile Leu Ser Ile Asp Ser Asp Val Leu Tyr
260 265 270

Pro Arg Gln Glu Gln Glu Glu Leu Ala Arg Leu Ile Pro Gly Ser Arg
275 280 285

Leu Leu Phe Leu Asp Glu Pro Tyr Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Asp
290 295 300

Thr Glu Thr Val Ser Arg Met Val Cys Glu Phe Lys Arg Gln Leu Ile
305 310 315 320

Val Asp Asn

<211> 1149
 <212> DNA
 <213> Caulobacter crescentus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1146)
 <223> RCO00727

<400> 9
 atg gct gcg ctc gat ccg atc acg ccc gcc ggc ggg gga acc tgg cgg 48
 Met Ala Ala Leu Asp Pro Ile Thr Pro Ala Gly Gly Gly Thr Trp Arg
 1 5 10 15
 ttt cct gcg aat gaa cct ctg cgg ctg gac tcc gga ggc gtc atc gaa 96
 Phe Pro Ala Asn Glu Pro Leu Arg Leu Asp Ser Gly Gly Val Ile Glu
 20 25 30
 ggt ctg gaa atc gcc tac cag acc tac ggc cag ctg aac gcg gac aag 144
 Gly Leu Glu Ile Ala Tyr Gln Thr Tyr Gly Gln Leu Asn Ala Asp Lys
 35 40 45
 tcc aac gcc gtc ctg atc tgc cac gcc ctg acg ggc gac cag cat gtg 192
 Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Thr Gly Asp Gln His Val
 50 55 60
 gcc tcg ccc cac ccc acc acc ggc aag ccc ggc tgg tgg caa cgc ctt 240
 Ala Ser Pro His Pro Thr Thr Gly Lys Pro Gly Trp Trp Gln Arg Leu
 65 70 75 80
 gtt ggt ccc ggt aag ccg ctg gat ccc gcg cgg cac ttc atc atc tgc 288
 Val Gly Pro Gly Lys Pro Leu Asp Pro Ala Arg His Phe Ile Ile Cys
 85 90 95
 tcg aac gtg atc ggc ggc tgc atg ggc tcg acg ggc ccc gcc tcg atc 336
 Ser Asn Val Ile Gly Gly Cys Met Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Ile
 100 105 110
 aat ccg gcc acg ggc aag acc tat ggc ctg tcg ttc cca gtc atc acc 384
 Asn Pro Ala Thr Gly Lys Thr Tyr Gly Leu Ser Phe Pro Val Ile Thr
 115 120 125
 atc gcc gat atg gtg cgg gcc cag gcc atg ctg gtc tct gcg ctc ggg 432
 Ile Ala Asp Met Val Arg Ala Gln Ala Met Leu Val Ser Ala Leu Gly
 130 135 140
 gtc gag acc ctg ttc gcc gtc gtc ggc ggc tcg atg ggc ggc atg cag 480
 Val Glu Thr Leu Phe Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly Met Gln
 145 150 155 160
 gtc cag caa tgg gcc gtg gac tat ccc gag cgg atg ttc agc gcc gtg 528
 Val Gln Gln Trp Ala Val Asp Tyr Pro Glu Arg Met Phe Ser Ala Val
 165 170 175
 gtg ctg gcc tcg gcc tcg cgc cac tcg gcc cag aac atc gcg ttc cac 576
 Val Leu Ala Ser Ala Ser Arg His Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe His
 180 185 190
 gag gtg ggc cgc cag gcg atc atg gcc gat ccc gac tgg cgc ggc ggc 624
 Glu Val Gly Arg Gln Ala Ile Met Ala Asp Pro Asp Trp Arg Gly Gly
 195 200 205
 gcc tat gcc gag cac ggc gtg cgg ccc gag aag ggc ctg gcc gtg gcg 672

Ala Tyr Ala Glu His Gly Val Arg Pro Glu Lys Gly Leu Ala Val Ala
 210 215 220

cgg atg gcc ggc cac atc acc tat ctg tcc gag ccc gcc ctg cag cgg 720
 Arg Met Ala Ala His Ile Thr Tyr Leu Ser Glu Pro Ala Leu Gln Arg
 225 230 235 240

aag ttc ggc cgc gag cta cag cgc gac ggc ctc tcc tgg ggc ttt gac 768
 Lys Phe Gly Arg Glu Leu Gln Arg Asp Gly Leu Ser Trp Gly Phe Asp
 245 250 255

gcc gac ttc cag gtc gag agc tat cta cgc cac cag ggg tcc agc ttc 816
 Ala Asp Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg His Gln Gly Ser Ser Phe
 260 265 270

gtc gac cgg ttc gac gcc aac agc tat ctc tac atc acc cgg gcc atg 864
 Val Asp Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr Leu Tyr Ile Thr Arg Ala Met
 275 280 285

gac tat ttc gac atc gcc ggc agc cat ggc ggg gtg ctg gcc aag gcg 912
 Asp Tyr Phe Asp Ile Ala Ala Ser His Gly Gly Val Leu Ala Lys Ala
 290 295 300

ttc acc cga gcg cgg aat gtg cgc ttc tgc gtg ctg agc ttc tcc agc 960
 Phe Thr Arg Ala Arg Asn Val Arg Phe Cys Val Leu Ser Phe Ser Ser
 305 310 315 320

gac tgg ctc tat ccg acc gcc gag aac cgc cac ctg gtc cgc gcc ctg 1008
 Asp Trp Leu Tyr Pro Thr Ala Glu Asn Arg His Leu Val Arg Ala Leu
 325 330 335

acc gcc gcc ggg gcc cgc gcg gcc ttc gcc gag atc gag agc gac aag 1056
 Thr Ala Ala Gly Ala Arg Ala Phe Ala Glu Ile Glu Ser Asp Lys
 340 345 350

ggc cat gac gcc ttc ctg ctg gac gag ccg gtg atg gac gcc gcg ctg 1104
 Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Glu Pro Val Met Asp Ala Ala Leu
 355 360 365

gaa ggc ttc ctg gcc tcg gcc gaa cgc gat cgg ggg ctg gtt 1146
 Glu Gly Phe Leu Ala Ser Ala Glu Arg Asp Arg Gly Leu Val
 370 375 380

tga 1149

<210> 10
 <211> 382
 <212> PRT
 <213> *Caulobacter crescentus*

<400> 10
 Met Ala Ala Leu Asp Pro Ile Thr Pro Ala Gly Gly Thr Trp Arg
 1 5 10 15

Phe Pro Ala Asn Glu Pro Leu Arg Leu Asp Ser Gly Gly Val Ile Glu
 20 25 30

Gly Leu Glu Ile Ala Tyr Gln Thr Tyr Gly Gln Leu Asn Ala Asp Lys
 35 40 45

Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Thr Gly Asp Gln His Val
 50 55 60

Ala Ser Pro His Pro Thr Thr Gly Lys Pro Gly Trp Trp Gln Arg Leu
65 70 75 80

Val Gly Pro Gly Lys Pro Leu Asp Pro Ala Arg His Phe Ile Ile Cys
85 90 95

Ser Asn Val Ile Gly Gly Cys Met Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Ile
100 105 110

Asn Pro Ala Thr Gly Lys Thr Tyr Gly Leu Ser Phe Pro Val Ile Thr
115 120 125

Ile Ala Asp Met Val Arg Ala Gln Ala Met Leu Val Ser Ala Leu Gly
130 135 140

Val Glu Thr Leu Phe Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly Met Gln
145 150 155 160

Val Gln Gln Trp Ala Val Asp Tyr Pro Glu Arg Met Phe Ser Ala Val
165 170 175

Val Leu Ala Ser Ala Ser Arg His Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe His
180 185 190

Glu Val Gly Arg Gln Ala Ile Met Ala Asp Pro Asp Trp Arg Gly Gly
195 200 205

Ala Tyr Ala Glu His Gly Val Arg Pro Glu Lys Gly Leu Ala Val Ala
210 215 220

Arg Met Ala Ala His Ile Thr Tyr Leu Ser Glu Pro Ala Leu Gln Arg
225 230 235 240

Lys Phe Gly Arg Glu Leu Gln Arg Asp Gly Leu Ser Trp Gly Phe Asp
245 250 255

Ala Asp Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg His Gln Gly Ser Ser Phe
260 265 270

Val Asp Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr Leu Tyr Ile Thr Arg Ala Met
275 280 285

Asp Tyr Phe Asp Ile Ala Ala Ser His Gly Gly Val Leu Ala Lys Ala
290 295 300

Phe Thr Arg Ala Arg Asn Val Arg Phe Cys Val Leu Ser Phe Ser Ser
305 310 315 320

Asp Trp Leu Tyr Pro Thr Ala Glu Asn Arg His Leu Val Arg Ala Leu
325 330 335

Thr Ala Ala Gly Ala Arg Ala Ala Phe Ala Glu Ile Glu Ser Asp Lys
340 345 350

Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Glu Pro Val Met Asp Ala Ala Leu
355 360 365

Glu Gly Phe Leu Ala Ser Ala Glu Arg Asp Arg Gly Leu Val
370 375 380

<211> 1140
 <212> DNA
 <213> Neisseria gonorrhoeae

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1137)
 <223> RNG00132

<400> 11
 atg agt caa aat acc tcg gtg ggc att gta acg ccc caa aaa att ccg 48
 Met Ser Gln Asn Thr Ser Val Gly Ile Val Thr Pro Gln Lys Ile Pro
 1 5 10 15
 ttt gaa atg ccg ctg gtt ttg gaa aac ggt aaa act ttg ccg cgt ttc 96
 Phe Glu Met Pro Leu Val Leu Glu Asn Gly Lys Thr Leu Pro Arg Phe
 20 25 30
 gat ctg atg att gaa acc tac ggc gag ctg aat gct gaa aaa aac aat 144
 Asp Leu Met Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn
 35 40 45
 gcg gtt tta atc tgc cac gcg ctg tcg ggc aac cat cac gtt gcg ggc 192
 Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val Ala Gly
 50 55 60
 agg cat tcg gcg gag gat aaa tat acg ggc tgg tgg gac aat atg gtc 240
 Arg His Ser Ala Glu Asp Lys Tyr Thr Gly Trp Trp Asp Asn Met Val
 65 70 75 80
 ggt ccc gga aaa ccg att gat acg gaa cgt ttt ttc gtg gtc ggg ttg 288
 Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Glu Arg Phe Phe Val Val Gly Leu
 85 90 95
 aac aat ctg ggc tgc gac ggc agc agc ggg cct ttg tcg atc aat 336
 Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asp Gly Ser Ser Gly Pro Leu Ser Ile Asn
 100 105 110
 cct gaa acg ggc agg gaa tac ggc gcg gat ttt ccg atg gtt acg gtg 384
 Pro Glu Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Ala Asp Phe Pro Met Val Thr Val
 115 120 125
 aag gac tgg gta aaa tca caa gcc gcg ctt gcc gat tat ctc ggc atc 432
 Lys Asp Trp Val Lys Ser Gln Ala Ala Leu Ala Asp Tyr Leu Gly Ile
 130 135 140
 gaa caa tgg gcg gcg gtt gtc ggc ggc agc ttg ggc ggc atg cag gct 480
 Glu Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala
 145 150 155 160
 ttg cag tgg gcg att tcc tat ccc gaa cgt gtg cgc cac gcc ttg gtg 528
 Leu Gln Trp Ala Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His Ala Leu Val
 165 170 175
 att gcg tct gcg ccg aaa ctg tcc gcg caa aat atc gcg ttt aat gat 576
 Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe Asn Asp
 180 185 190
 gta gca cgt cag gcg att ttg acc gac ccc gat ttc aat gaa gga cat 624
 Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Asp Phe Asn Glu Gly His
 195 200 205
 tac cgc agc cac aac acc gtt ccc gcg cgc ggt ttg cgg att gcc cgt 672

Tyr	Arg	Ser	His	Asn	Thr	Val	Pro	Ala	Arg	Gly	Leu	Arg	Ile	Ala	Arg	
210																
																215
																220
atg atg gga cac att acg tat ctt gcc gaa gac ggt ttg ggc aaa aaa															720	
Met	Met	Gly	His	Ile	Thr	Tyr	Leu	Ala	Glu	Asp	Gly	Leu	Gly	Lys	Lys	
225																230
																235
ttc gga cgc gat ttg cgt tcc aac ggc tat caa tac ggc tat agc gtt															768	
Phe	Gly	Arg	Asp	Leu	Arg	Ser	Asn	Gly	Tyr	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Ser	Val	
245																250
																255
gaa ttt gaa gta gaa tcc tat ctc cgc tat caa ggc gac aaa ttc gtc															816	
Glu	Phe	Glu	Val	Glu	Ser	Tyr	Leu	Arg	Tyr	Gln	Gly	Asp	Lys	Phe	Val	
260																265
																270
ggg cgg ttt gat gct aat aca tat ttg ctg atg acc aaa gct ttg gac															864	
Gly	Arg	Phe	Asp	Ala	Asn	Thr	Tyr	Leu	Leu	Met	Thr	Lys	Ala	Leu	Asp	
275																280
																285
tat ttc gat ccg gcg gcg gat ttc ggc aac agc ctg acc cgc gcc gtg															912	
Tyr	Phe	Asp	Pro	Ala	Ala	Asp	Phe	Gly	Asn	Ser	Leu	Thr	Arg	Ala	Val	
290																295
																300
cag gat gtg cag gca aaa ttc ttt gtc gcc agc ttc agc acc gac tgg															960	
Gln	Asp	Val	Gln	Ala	Lys	Phe	Phe	Val	Ala	Ser	Phe	Ser	Thr	Asp	Trp	
305																310
																315
																320
cgt ttc gcg ccc gaa cgt tcg cac gaa ctg gtc aag gca ctg att gcc															1008	
Arg	Phe	Ala	Pro	Glu	Arg	Ser	His	Glu	Leu	Val	Lys	Ala	Leu	Ile	Ala	
325																330
																335
gcc caa aaa tcc gtg cag tat atc gaa gtc aag tcc gca cac ggg cac															1056	
Ala	Gln	Lys	Ser	Val	Gln	Tyr	Ile	Glu	Val	Lys	Ser	Ala	His	Gly	His	
340																345
																350
gat gcc ttt tta atg gaa gac gaa gcc tat atg cgc gcc gta acg gct															1104	
Asp	Ala	Phe	Leu	Met	Glu	Asp	Glu	Ala	Tyr	Met	Arg	Ala	Val	Thr	Ala	
355																360
																365
tat atg aac aat gtt gac aag gat tgc cga tta tga															1140	
Tyr	Met	Asn	Asn	Val	Asp	Lys	Asp	Cys	Arg	Leu						
370																375

<210> 12

<211> 379

<212> PRT

<213> Neisseria gonorrhoeae

<400> 12

Met Ser Gln Asn Thr Ser Val Gly Ile Val Thr Pro Gln Lys Ile Pro

1

5

10

15

Phe Glu Met Pro Leu Val Leu Glu Asn Gly Lys Thr Leu Pro Arg Phe

20

25

30

Asp Leu Met Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn

35

40

45

Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val Ala Gly

50

55

60

Arg His Ser Ala Glu Asp Lys Tyr Thr Gly Trp Trp Asp Asn Met Val
 65 70 75 80

Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Glu Arg Phe Phe Val Val Gly Leu
 85 90 95

Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asp Gly Ser Ser Gly Pro Leu Ser Ile Asn
 100 105 110

Pro Glu Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Ala Asp Phe Pro Met Val Thr Val
 115 120 125

Lys Asp Trp Val Lys Ser Gln Ala Ala Leu Ala Asp Tyr Leu Gly Ile
 130 135 140

Glu Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala
 145 150 155 160

Leu Gln Trp Ala Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His Ala Leu Val
 165 170 175

Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe Asn Asp
 180 185 190

Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Asp Phe Asn Glu Gly His
 195 200 205

Tyr Arg Ser His Asn Thr Val Pro Ala Arg Gly Leu Arg Ile Ala Arg
 210 215 220

Met Met Gly His Ile Thr Tyr Leu Ala Glu Asp Gly Leu Gly Lys Lys
 225 230 235 240

Phe Gly Arg Asp Leu Arg Ser Asn Gly Tyr Gln Tyr Gly Tyr Ser Val
 245 250 255

Glu Phe Glu Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Asp Lys Phe Val
 260 265 270

Gly Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr Lys Ala Leu Asp
 275 280 285

Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Asp Phe Gly Asn Ser Leu Thr Arg Ala Val
 290 295 300

Gln Asp Val Gln Ala Lys Phe Phe Val Ala Ser Phe Ser Thr Asp Trp
 305 310 315 320

Arg Phe Ala Pro Glu Arg Ser His Glu Leu Val Lys Ala Leu Ile Ala
 325 330 335

Ala Gln Lys Ser Val Gln Tyr Ile Glu Val Lys Ser Ala His Gly His
 340 345 350

Asp Ala Phe Leu Met Glu Asp Glu Ala Tyr Met Arg Ala Val Thr Ala
 355 360 365

Tyr Met Asn Asn Val Asp Lys Asp Cys Arg Leu
 370 375

<212> DNA
 <213> Neisseria meningitidis ser. A

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1137)

<223> RNM00815

<400> 13 48
 atg agt caa aat gcc tcg gtg ggc att gta acg ccc caa aaa att ccg
 Met Ser Gln Asn Ala Ser Val Gly Ile Val Thr Pro Gln Lys Ile Pro
 5 10 15
 1 5
 ttt gaa atg ccg ctg gtt ttg gaa aac ggt aaa act ttg ccg cgt ttc 96
 Phe Glu Met Pro Leu Val Leu Glu Asn Gly Lys Thr Leu Pro Arg Phe
 20 25 30
 gat ctg atg att gaa acc tac ggc gag ctg aat gcc gaa aaa aat aat 144
 Asp Leu Met Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn
 35 40 45
 gcg gtt tta atc tgt cat gcg ctg tca ggc aac cat cat gtt gcg ggc 192
 Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val Ala Gly
 50 55 60
 agg cat tcg gcg gag gat aaa tat acg ggc tgg tgg gac aat atg gta 240
 Arg His Ser Ala Glu Asp Lys Tyr Thr Gly Trp Trp Asp Asn Met Val
 65 70 75 80
 gga ccc ggc aaa ccg att gat aca gaa cgt ttt ttc gtg gtc ggt ttg 288
 Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Glu Arg Phe Phe Val Val Gly Leu
 85 90 95
 aac aat ctg ggc tgc gac ggc agc agc gga cct ttg tgc atc aat 336
 Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asp Gly Ser Ser Gly Pro Leu Ser Ile Asn
 100 105 110
 cct gaa acg ggc agg gaa tac ggc gcg gat ttt ccg gtg gtt acg gtg 384
 Pro Glu Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Ala Asp Phe Pro Val Val Thr Val
 115 120 125
 aag gac tgg gta aaa tcc caa gcc gcg ctt acc gat tat ctc ggc atc 432
 Lys Asp Trp Val Lys Ser Gln Ala Ala Leu Thr Asp Tyr Leu Gly Ile
 130 135 140
 ggg caa tgg gcg gcg gtt gtc ggc agc ttg ggc ggt atg cag gct 480
 Gly Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala
 145 150 155 160
 ttg cag tgg acg att tcc tat ccc gag cgc gtg cgc cat gcc tta gtg 528
 Leu Gln Trp Thr Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His Ala Leu Val
 165 170 175
 att gcg tcc gcg ccg aaa ctg tcc acg caa aat atc gcg ttt aat gat 576
 Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Thr Gln Asn Ile Ala Phe Asn Asp
 180 185 190
 gta gca cgt cag gcg att ttg acc gat ccc gat ttc aac gaa gga cat 624
 Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Asp Phe Asn Glu Gly His
 195 200 205
 tac cgc agc cgc aac acc gtt ccc gct cgg ggc ttg cgg att gcc cgc 672
 Tyr Arg Ser Arg Asn Thr Val Pro Ala Arg Gly Leu Arg Ile Ala Arg

210

215

220

atg atg ggg cac atc acc tat ctt gcc gaa gac ggt ttg ggc aaa aaa 720
 Met Met Gly His Ile Thr Tyr Leu Ala Glu Asp Gly Leu Gly Lys Lys
 225 230 235 240

ttc gga cgc gat ttg cgt tcc aac ggc tat caa tac ggc tat ggc gtt 768
 Phe Gly Arg Asp Leu Arg Ser Asn Gly Tyr Gln Tyr Gly Tyr Gly Val
 245 250 255

gaa ttt gaa gta gaa tcc tat ctg cgc tat caa ggc gat aaa ttc gtc 816
 Glu Phe Glu Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Asp Lys Phe Val
 260 265 270

ggg cgg ttt gat gcc aac acc tat ttg ctg atg acc aag gct ttg gac 864
 Gly Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr Lys Ala Leu Asp
 275 280 285

tat ttc gat ccg gcg gcg gat ttc ggc aac agc ctg acc cgc gcc gtg 912
 Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Asp Phe Gly Asn Ser Leu Thr Arg Ala Val
 290 295 300

cag gat gtt cag gca aaa ttc ttt gtc gcc agc ttc agc acc gat tgg 960
 Gln Asp Val Gln Ala Lys Phe Phe Val Ala Ser Phe Ser Thr Asp Trp
 305 310 315 320

cgt ttc gcg ccc gaa cgt tcg cac gaa ctg gtc aag gcc ctg att gcc 1008
 Arg Phe Ala Pro Glu Arg Ser His Glu Leu Val Lys Ala Leu Ile Ala
 325 330 335

gcc caa aaa tcc gtg cag tat atc gaa gtc aaa tcc gca cac ggg cac 1056
 Ala Gln Lys Ser Val Gln Tyr Ile Glu Val Lys Ser Ala His Gly His
 340 345 350

gat gcc ttt tta atg gaa gac gaa gac tat atg cgt gcg gtc gcc gcc 1104
 Asp Ala Phe Leu Met Glu Asp Glu Ala Tyr Met Arg Ala Val Ala Ala
 355 360 365

tat atg aac aac gtt tat aag gaa tgt cag caa tga 1140
 Tyr Met Asn Asn Val Tyr Lys Glu Cys Gln Gln
 370 375

<210> 14
 <211> 379
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis ser. A

<400> 14
 Met Ser Gln Asn Ala Ser Val Gly Ile Val Thr Pro Gln Lys Ile Pro
 1 5 10 15

Phe Glu Met Pro Leu Val Leu Glu Asn Gly Lys Thr Leu Pro Arg Phe
 20 25 30

Asp Leu Met Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn
 35 40 45

Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val Ala Gly
 50 55 60

Arg His Ser Ala Glu Asp Lys Tyr Thr Gly Trp Trp Asp Asn Met Val
 65 70 75 80

Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Glu Arg Phe Phe Val Val Gly Leu
 85 90 95
 Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asp Gly Ser Ser Gly Pro Leu Ser Ile Asn
 100 105 110
 Pro Glu Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Ala Asp Phe Pro Val Val Thr Val
 115 120 125
 Lys Asp Trp Val Lys Ser Gln Ala Ala Leu Thr Asp Tyr Leu Gly Ile
 130 135 140
 Gly Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala
 145 150 155 160
 Leu Gln Trp Thr Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His Ala Leu Val
 165 170 175
 Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Thr Gln Asn Ile Ala Phe Asn Asp
 180 185 190
 Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Asp Phe Asn Glu Gly His
 195 200 205
 Tyr Arg Ser Arg Asn Thr Val Pro Ala Arg Gly Leu Arg Ile Ala Arg
 210 215 220
 Met Met Gly His Ile Thr Tyr Leu Ala Glu Asp Gly Leu Gly Lys
 225 230 235 240
 Phe Gly Arg Asp Leu Arg Ser Asn Gly Tyr Gln Tyr Gly Tyr Gly Val
 245 250 255
 Glu Phe Glu Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Asp Lys Phe Val
 260 265 270
 Gly Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr Lys Ala Leu Asp
 275 280 285
 Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Asp Phe Gly Asn Ser Leu Thr Arg Ala Val
 290 295 300
 Gln Asp Val Gln Ala Lys Phe Phe Val Ala Ser Phe Ser Thr Asp Trp
 305 310 315 320
 Arg Phe Ala Pro Glu Arg Ser His Glu Leu Val Lys Ala Leu Ile Ala
 325 330 335
 Ala Gln Lys Ser Val Gln Tyr Ile Glu Val Lys Ser Ala His Gly His
 340 345 350
 Asp Ala Phe Leu Met Glu Asp Glu Ala Tyr Met Arg Ala Val Ala Ala
 355 360 365
 Tyr Met Asn Asn Val Tyr Lys Glu Cys Gln Gln
 370 375

<210> 15

<211> 1140

<212> DNA

<213> Pseudomonas fluorescens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1137)
 <223> RPU01633

<400> 15 48
 atg cca gct gcc ttt ccc ccc gat tct gtt ggt ctg gtg acg ccg caa
 Met Pro Ala Ala Phe Pro Pro Asp Ser Val Gly Leu Val Thr Pro Gln
 1 5 10 15
 acg gcg cac ttc agc gaa ccg ctg gcc ctg ggc tgc ggc cgt tcg ctg 96
 Thr Ala His Phe Ser Glu Pro Leu Ala Leu Ala Cys Gly Arg Ser Leu
 20 25 30
 gcc gat tat gac ctg atc tac gaa acc tac ggc acg ctg aac gcg caa 144
 Ala Asp Tyr Asp Leu Ile Tyr Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Gln
 35 40 45
 gcg agc aac gcc gtg ctg atc tgc cac gcc ttg tcc ggc cac cac cat 192
 Ala Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His
 50 55 60
 gct gcg ggt tat cac agc gtc gac gac cgc aag ccc ggt tgg tgg gac 240
 Ala Ala Gly Tyr His Ser Val Asp Asp Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp
 65 70 75 80
 agc tgc atc ggc ccc ggc aaa ccg atc gac acc aac aag ttc ttc gtg 288
 Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Asn Lys Phe Phe Val
 85 90 95
 gtc agc ctg aac aac ctc ggc ggt tgc aat ggt tct acc ggc ccg agc 336
 Val Ser Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Thr Gly Pro Ser
 100 105 110
 agc ctc aat ccg gaa acc ggc aag ccg ttc ggc gcc gac ttc ccg gtg 384
 Ser Leu Asn Pro Glu Thr Gly Lys Pro Phe Gly Ala Asp Phe Pro Val
 115 120 125
 ctg acc gtg gaa gac tgg gtg cac agc cag gca cgc ctg gcc gac ctg 432
 Leu Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Leu
 130 135 140
 ctc ggc atc ggc cag tgg gcg gcg gtg atc ggc ggc agc ctg ggc ggc 480
 Leu Gly Ile Gly Gln Trp Ala Ala Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly
 145 150 155 160
 atg cag gcg ctg caa tgg acc atc acc tat ccg gat cgc gtt cgc cac 528
 Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Ile Tyr Pro Asp Arg Val Arg His
 165 170 175
 tgc ctg gcc atc gcc tcg gcc ccc aag ctg tcg gcg cag aac atc gcc 576
 Cys Leu Ala Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala
 180 185 190
 ttc aac gaa gtg gcg cgc cag gcg atc ctc act gac ccg gaa ttc cac 624
 Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Glu Phe His
 195 200 205
 ggc ggc tcg ttc cag gaa cac ggc gtg atc ccc aag cgc ggc ctg atg 672
 Gly Gly Ser Phe Gln Glu His Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Met
 210 215 220

ctg gcg cgg atg gtg ggg cac atc acc tac ctg tcc gac gac tcc atg 720
 Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met
 225 230 235 240
 ggt gag aaa ttc ggc cgt ggc ctg aag agc gaa aag ctc aac tac gac 768
 Gly Glu Lys Phe Gly Arg Gly Leu Lys Ser Glu Lys Leu Asn Tyr Asp
 245 250 255
 ttc cac agc gtc gag ttc cag gtc gaa agc tac ctg cgc tat cag ggc 816
 Phe His Ser Val Glu Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly
 260 265 270
 gaa gag ttc tcc ggg cgc ttc gat gcc aac acc tat ctg ttg atg acc 864
 Glu Glu Phe Ser Gly Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr
 275 280 285
 aag gcg ctg gac tac ttc gat ccg gcg gcg aac ttc aac gat aac ctg 912
 Lys Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Asn Phe Asn Asp Asn Leu
 290 295 300
 gcg aaa acc ttc gaa ggt gca aaa gcc aag ttc tgc gtg atg tcg ttc 960
 Ala Lys Thr Phe Glu Gly Ala Lys Ala Lys Phe Cys Val Met Ser Phe
 305 310 315 320
 acc acc gac tgg cgc ttc tcc ccg gcc cgc tcg cga gaa ctg gtg gat 1008
 Thr Thr Asp Trp Arg Phe Ser Pro Ala Arg Ser Arg Glu Leu Val Asp
 325 330 335
 gcg ctg atg gcg gcg aaa gac gtc agc tac ctg gaa atc gac gcg 1056
 Ala Leu Met Ala Ala Arg Lys Asp Val Ser Tyr Leu Glu Ile Asp Ala
 340 345 350
 ccc cag ggc cac gac gcc ttc ctg att ccg atc ccg cgc tac ttg cag 1104
 Pro Gln Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Pro Ile Pro Arg Tyr Leu Gln
 355 360 365
 gcg ttc ggc aat tac atg aac cgc att acg ttg tga 1140
 Ala Phe Gly Asn Tyr Met Asn Arg Ile Thr Leu
 370 375

<210> 16
 <211> 379
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas fluorescens

<400> 16
 Met Pro Ala Ala Phe Pro Pro Asp Ser Val Gly Leu Val Thr Pro Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala His Phe Ser Glu Pro Leu Ala Leu Ala Cys Gly Arg Ser Leu
 20 25 30
 Ala Asp Tyr Asp Leu Ile Tyr Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Gln
 35 40 45
 Ala Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His
 50 55 60
 Ala Ala Gly Tyr His Ser Val Asp Asp Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp
 65 70 75 80
 Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Asn Lys Phe Phe Val

85

90

95

Val Ser Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Thr Gly Pro Ser
 100 105 110
 Ser Leu Asn Pro Glu Thr Gly Lys Pro Phe Gly Ala Asp Phe Pro Val
 115 120 125
 Leu Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Leu
 130 135 140
 Leu Gly Ile Gly Gln Trp Ala Ala Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly
 145 150 155 160
 Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Ile Thr Tyr Pro Asp Arg Val Arg His
 165 170 175
 Cys Leu Ala Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala
 180 185 190
 Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Glu Phe His
 195 200 205
 Gly Gly Ser Phe Gln Glu His Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Met
 210 215 220
 Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met
 225 230 235 240
 Gly Glu Lys Phe Gly Arg Gly Leu Lys Ser Glu Lys Leu Asn Tyr Asp
 245 250 255
 Phe His Ser Val Glu Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly
 260 265 270
 Glu Glu Phe Ser Gly Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr
 275 280 285
 Lys Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Asn Phe Asn Asp Asn Leu
 290 295 300
 Ala Lys Thr Phe Glu Gly Ala Lys Ala Lys Phe Cys Val Met Ser Phe
 305 310 315 320
 Thr Thr Asp Trp Arg Phe Ser Pro Ala Arg Ser Arg Glu Leu Val Asp
 325 330 335
 Ala Leu Met Ala Ala Arg Lys Asp Val Ser Tyr Leu Glu Ile Asp Ala
 340 345 350
 Pro Gln Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Pro Ile Pro Arg Tyr Leu Gln
 355 360 365
 Ala Phe Gly Asn Tyr Met Asn Arg Ile Thr Leu
 370 375

<210> 17

<211> 1140

<212> DNA

<213> Pseudomonas aeruginosa

<220>

<221> CDS
 <222> (1)..(1137)
 <223> RPA04460

<400> 17 48
 atg ccc aca gtc ttc ccc gac gac tcc gtc ggt ctg gtc tcc ccc cag
 Met Pro Thr Val Phe Pro Asp Asp Ser Val Gly Leu Val Ser Pro Gln
 1 5 10 15
 acg ctg cac ttc aac gaa ccg ctc gag ctg acc agc ggc aag tcc ctg 96
 Thr Leu His Phe Asn Glu Pro Leu Glu Leu Thr Ser Gly Lys Ser Leu
 20 25 30
 gcc gag tac gac ctg gtg atc gaa acc tac ggc gag ctg aat gcc acg 144
 Ala Glu Tyr Asp Leu Val Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Thr
 35 40 45
 cag agc aac gcg gtg ctg atc tgc cac gcc ctc tcc ggc cac cac cac 192
 Gln Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His
 50 55 60
 gcc gcc ggc tac cac agc gtc gac gag cgc aag ccg ggc tgg tgg gac 240
 Ala Ala Gly Tyr His Ser Val Asp Glu Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp
 65 70 75 80
 agc tgc atc ggt ccg ggc aag ccg atc gac acc cgc aag ttc ttc gtc 288
 Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Arg Lys Phe Phe Val
 85 90 95
 gtc gcc ctc aac aac ctc ggc ggt tgc aac gga tcc agc ggc ccc gcc 336
 Val Ala Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Ser Gly Pro Ala
 100 105 110
 agc atc aat ccg gcg acc ggc aag gtc tac ggc gcg gac ttc ccg atg 384
 Ser Ile Asn Pro Ala Thr Gly Lys Val Tyr Ala Asp Phe Pro Met
 115 120 125
 gtt acg gtg gaa gac tgg gtg cat agc cag gcg cgc ctg gca gac cgc 432
 Val Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Arg
 130 135 140
 ctc ggc atc cgc cag tgg gcc gcg gtg gtc ggc ggc agc ctc ggc ggc 480
 Leu Gly Ile Arg Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly
 145 150 155 160
 atg cag gcg ctg caa tgg acc atc agc tat ccc gag cgc gtc cgt cac 528
 Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His
 165 170 175
 tgc ctg tgc atc gcc agc gcg ccg aag ctg tgc gcg cag aac atc gcc 576
 Cys Leu Cys Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala
 180 185 190
 ttc aac gaa gtc gcc cgg cag gcg att ctt tcc gac cct gag ttc ctc 624
 Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Ser Asp Pro Glu Phe Leu
 195 200 205
 ggc ggc tac ttc cag gag cag ggc gtg att ccc aag cgc ggc ctc aag 672
 Gly Gly Tyr Phe Gln Glu Gln Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Lys
 210 215 220
 ctg gcg cgg atg gtc ggc cat atc acc tac ctg tcc gac gac gcc atg 720
 Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ala Met

225	230	235	240	
ggc gcc aag ttc ggc cgt gta ctg aag acc gag aag ctc aac tac gac				768
Gly Ala Lys Phe	Gly Arg Val Leu Lys	Thr Glu Lys Leu Asn	Tyr Asp	
245	250	255		
ctg cac agc gtc gag ttc cag gtc gag agt tac ctg cgc tac cag ggc				816
Leu His Ser Val Glu Phe	Gln Val Glu Ser Tyr	Leu Arg Tyr	Gln Gly	
260	265	270		
gag gag ttc tcc acc cgc ttc gac gcc aat acc tac ctg ctg atg acc				864
Glu Glu Phe Ser Thr Arg	Phe Asp Ala Asn	Thr Tyr Leu Leu	Met Thr	
275	280	285		
aag gcg ctg gac tac ttc gac ccc gcc gcc cac ggc gac gac ctg				912
Lys Ala Leu Asp Tyr	Phe Asp Pro Ala Ala	Ala His Gly Asp Asp	Leu	
290	295	300		
gtg cgc acc ctg gag ggc gtc gag gcg gac ttc tgc ctg atg tcc ttc				960
Val Arg Thr Leu Glu	Gly Val Ala Asp	Phe Cys Leu Met	Ser Phe	
305	310	315	320	
acc acc gac tgg cgt ttc tcg ccg gcc cgc tcg cgg gaa atc gtc gac				1008
Thr Thr Asp Trp Arg	Phe Ser Pro Ala Arg	Ser Arg Glu Ile	Val Asp	
325	330	335		
gcc ctg atc gcg gcg aaa aag aac gtc agc tac ctg gag atc gac gcc				1056
Ala Leu Ile Ala Ala	Lys Lys Asn Val Ser	Tyr Leu Glu Ile Asp	Ala	
340	345	350		
ccg caa ggc cac gac gcc ttc ctc atg ccg atc ccc cgg tac ctg caa				1104
Pro Gln Gly His Asp	Ala Phe Leu Met	Pro Ile Pro Arg	Tyr Leu Gln	
355	360	365		
gcc ttc agc ggt tac atg aac cgc atc agc gtg tga				1140
Ala Phe Ser Gly	Tyr Met Asn Arg	Ile Ser Val		
370	375			
<210> 18				
<211> 379				
<212> PRT				
<213> Pseudomonas aeruginosa				
<400> 18				
Met Pro Thr Val Phe Pro Asp Asp Ser Val Gly Leu Val Ser Pro Gln				
1	5	10	15	
Thr Leu His Phe Asn Glu Pro Leu Glu Leu Thr Ser Gly Lys Ser Leu				
20	25	30		
Ala Glu Tyr Asp Leu Val Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Thr				
35	40	45		
Gln Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His				
50	55	60		
Ala Ala Gly Tyr His Ser Val Asp Glu Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp				
65	70	75	80	
Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Arg Lys Phe Phe Val				
85	90	95		

Val Ala Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Ser Gly Pro Ala
100 105 110

Ser Ile Asn Pro Ala Thr Gly Lys Val Tyr Gly Ala Asp Phe Pro Met
115 120 125

Val Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Arg
130 135 140

Leu Gly Ile Arg Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly
145 150 155 160

Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His
165 170 175

Cys Leu Cys Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala
180 185 190

Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Ser Asp Pro Glu Phe Leu
195 200 205

Gly Gly Tyr Phe Gln Glu Gln Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Lys
210 215 220

Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ala Met
225 230 235 240

Gly Ala Lys Phe Gly Arg Val Leu Lys Thr Glu Lys Leu Asn Tyr Asp
245 250 255

Leu His Ser Val Glu Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly
260 265 270

Glu Glu Phe Ser Thr Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr
275 280 285

Lys Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala His Gly Asp Asp Leu
290 295 300

Val Arg Thr Leu Glu Gly Val Glu Ala Asp Phe Cys Leu Met Ser Phe
305 310 315 320

Thr Thr Asp Trp Arg Phe Ser Pro Ala Arg Ser Arg Glu Ile Val Asp
325 330 335

Ala Leu Ile Ala Ala Lys Lys Asn Val Ser Tyr Leu Glu Ile Asp Ala
340 345 350

Pro Gln Gly His Asp Ala Phe Leu Met Pro Ile Pro Arg Tyr Leu Gln
355 360 365

Ala Phe Ser Gly Tyr Met Asn Arg Ile Ser Val
370 375

<210> 19
<211> 1146
<212> DNA
<213> Burkholderia cepacia

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(1143)

<223> RBU12675

<400> 19

atg gaa tcg atc ggt atc gtc gct ccc caa aaa atg cat ttc acc gag	48
Met Glu Ser Ile Gly Ile Val Ala Pro Gln Lys Met His Phe Thr Glu	
1 5 10 15	
ccg ctg ccg ttg cag aac ggc agt tcg ctc gcc ggt tac gac ctg atg	96
Pro Leu Pro Leu Gln Asn Gly Ser Ser Leu Ala Gly Tyr Asp Leu Met	
20 25 30	
gtc gag acc tac ggc acg ctc aac gcc gcg cgt agc aac gcg gtg ctg	144
Val Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Ala Arg Ser Asn Ala Val Leu	
35 40 45	
gtg tgc cac gcg ctc aac gcg tcg cac cac gtg gcg ggc gtg tat gcc	192
Val Cys His Ala Leu Asn Ala Ser His His Val Ala Gly Val Tyr Ala	
50 55 60	
gac aac ccc agg gac atc ggc tgg tgg gac aac atg gtc ggc ccg ggc	240
Asp Asn Pro Arg Asp Ile Gly Trp Trp Asp Asn Met Val Gly Pro Gly	
65 70 75 80	
aag ccg ctc gac act gac aag ttc ttc gtg atc ggc gtg aac aac ctc	288
Lys Pro Leu Asp Thr Asp Lys Phe Phe Val Ile Gly Val Asn Asn Leu	
85 90 95	
gga tcg tgc ttc ggc tcg act ggg ccg atg agc atc gat ccg tct acc	336
Gly Ser Cys Phe Gly Ser Thr Gly Pro Met Ser Ile Asp Pro Ser Thr	
100 105 110	
ggc aat ccg tac ggc gcg acg ttt ccc gtc gtg acg gtg gaa gac tgg	384
Gly Asn Pro Tyr Gly Ala Thr Phe Pro Val Val Thr Val Glu Asp Trp	
115 120 125	
gtc aac gcc cag gcg cgc gtc gcg gat caa ttc ggc atc acg cgc ttt	432
Val Asn Ala Gln Ala Arg Val Ala Asp Gln Phe Gly Ile Thr Arg Phe	
130 135 140	
gcg gcg gtg atg ggc ggc agc ctc ggc ggc atg cag gcg ctc gcg tgg	480
Ala Ala Val Met Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala Leu Ala Trp	
145 150 155 160	
agc atg atg tat ccg gag cgc gtc gct cac tgc atc gtg gtc gcg tcc	528
Ser Met Met Tyr Pro Glu Arg Val Ala His Cys Ile Val Val Ala Ser	
165 170 175	
aca ccc aag ctg tcg gcg cag aac atc gcg ttc aac gag gtt gcg cgc	576
Thr Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe Asn Glu Val Ala Arg	
180 185 190	
tcg gcg atc ctg tcg gac ccg gac ttc cac ggc ggc aac tac tac gcg	624
Ser Ala Ile Leu Ser Asp Pro Asp Phe His Gly Gly Asn Tyr Tyr Ala	
195 200 205	
cac aac gtt aag ccg aag cgc ggc ctg cgc gtc gcg cgc atg atc ggc	672
His Asn Val Lys Pro Lys Arg Gly Leu Arg Val Ala Arg Met Ile Gly	
210 215 220	
cac atc acg tat ctg tcg gac gac gac atg gcc gag aaa ttc ggc cgc	720
His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Asp Met Ala Glu Lys Phe Gly Arg	
225 230 235 240	

tcg ctg cgg cgc gcg gaa ggc gcg ctg gac gcg tac aac ttc aac ttc Ser Leu Arg Arg Ala Glu Gly Ala Leu Asp Ala Tyr Asn Phe Asn Phe 245 250 255	768
gac gtg gag ttc gag gtg gag tcg tac ctg cgc tac cag ggc gac aag Asp Val Glu Phe Glu Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Asp Lys 260 265 270	816
ttc gcc gac tac ttc gac gcg aat acg tat ctg ctg atc acc cgc gcg Phe Ala Asp Tyr Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Ile Thr Arg Ala 275 280 285	864
ctc gac tac ttc gat ccg gcc aag gcc ttc gcc ggc gac ctg acg gcc Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Lys Ala Phe Ala Gly Asp Leu Thr Ala 290 295 300	912
gcg gtc gcg cac acc acg gcg aaa tat ctg atc gcc agc ttc acg acc Ala Val Ala His Thr Thr Ala Lys Tyr Leu Ile Ala Ser Phe Thr Thr 305 310 315 320	960
gac tgg cgc ttc gcg ccg gcc cgc tcg cgt gaa ctg gtg aag gcg ctg Asp Trp Arg Phe Ala Pro Ala Arg Ser Arg Glu Leu Val Lys Ala Leu 325 330 335	1008
ctc gat cac aag cgc acg gtc acc tac gcg gaa atc gac gcg ccg cac Leu Asp His Lys Arg Thr Val Thr Tyr Ala Glu Ile Asp Ala Pro His 340 345 350	1056
ggc cac gac gcc ttc ctg ctc gac gac gcg cgc tat cac aac ctg atg Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Asp Ala Arg Tyr His Asn Leu Met 355 360 365	1104
cgc gct tac tac gaa cgt att gcg aac gag gtg aac gca tga Arg Ala Tyr Tyr Glu Arg Ile Ala Asn Glu Val Asn Ala 370 375 380	1146

<210> 20
<211> 381
<212> PRT
<213> Burkholderia cepacia

<400> 20 Met Glu Ser Ile Gly Ile Val Ala Pro Gln Lys Met His Phe Thr Glu 1 5 10 15
Pro Leu Pro Leu Gln Asn Gly Ser Ser Leu Ala Gly Tyr Asp Leu Met 20 25 30
Val Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Ala Arg Ser Asn Ala Val Leu 35 40 45
Val Cys His Ala Leu Asn Ala Ser His His Val Ala Gly Val Tyr Ala 50 55 60
Asp Asn Pro Arg Asp Ile Gly Trp Trp Asp Asn Met Val Gly Pro Gly 65 70 75 80
Lys Pro Leu Asp Thr Asp Lys Phe Phe Val Ile Gly Val Asn Asn Leu 85 90 95
Gly Ser Cys Phe Gly Ser Thr Gly Pro Met Ser Ile Asp Pro Ser Thr 100 105 110

Gly Asn Pro Tyr Gly Ala Thr Phe Pro Val Val Thr Val Glu Asp Trp
115 120 125

Val Asn Ala Gln Ala Arg Val Ala Asp Gln Phe Gly Ile Thr Arg Phe
130 135 140

Ala Ala Val Met Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala Leu Ala Trp
145 150 155 160

Ser Met Met Tyr Pro Glu Arg Val Ala His Cys Ile Val Val Ala Ser
165 170 175

Thr Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe Asn Glu Val Ala Arg
180 185 190

Ser Ala Ile Leu Ser Asp Pro Asp Phe His Gly Gly Asn Tyr Tyr Ala
195 200 205

His Asn Val Lys Pro Lys Arg Gly Leu Arg Val Ala Arg Met Ile Gly
210 215 220

His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Asp Met Ala Glu Lys Phe Gly Arg
225 230 235 240

Ser Leu Arg Arg Ala Glu Gly Ala Leu Asp Ala Tyr Asn Phe Asn Phe
245 250 255

Asp Val Glu Phe Glu Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Asp Lys
260 265 270

Phe Ala Asp Tyr Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Ile Thr Arg Ala
275 280 285

Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Lys Ala Phe Ala Gly Asp Leu Thr Ala
290 295 300

Ala Val Ala His Thr Thr Ala Lys Tyr Leu Ile Ala Ser Phe Thr Thr
305 310 315 320

Asp Trp Arg Phe Ala Pro Ala Arg Ser Arg Glu Leu Val Lys Ala Leu
325 330 335

Leu Asp His Lys Arg Thr Val Thr Tyr Ala Glu Ile Asp Ala Pro His
340 345 350

Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Asp Ala Arg Tyr His Asn Leu Met
355 360 365

Arg Ala Tyr Tyr Glu Arg Ile Ala Asn Glu Val Asn Ala
370 375 380

<210> 21

<211> 1134

<212> DNA

<213> Nitrosomonas europaea

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(1131)

<223> RNE02005

<400> 21

atg tcc aca caa gat tct gat tcg atc ggc atc gta tcg gca cga cgc	48
Met Ser Thr Gln Asp Ser Asp Ser Ile Gly Ile Val Ser Ala Arg Arg	
1 5 10 15	
gcc cat ttc gac acc ccg ctc agc ctg aaa agc gga gct gta ctg gac	96
Ala His Phe Asp Thr Pro Leu Ser Leu Lys Ser Gly Ala Val Leu Asp	
20 25 30	
agc tac gag ctc gtc tat gaa acc tat ggg gag ctg aat gca gac cga	144
Ser Tyr Glu Leu Val Tyr Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Asp Arg	
35 40 45	
tcc aat gca gtg ctg atc tgc cat gct tta tcc ggc aac cac cat gtt	192
Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val	
50 55 60	
gcc ggt gtt tat gca gat aac ccc aag aat acc gga tgg tgg aac aac	240
Ala Gly Val Tyr Ala Asp Asn Pro Lys Asn Thr Gly Trp Trp Asn Asn	
65 70 75 80	
atg atc ggt ccg ggc aaa ccg gtc gat acc cga aaa ttc ttt gtc atc	288
Met Ile Gly Pro Gly Lys Pro Val Asp Thr Arg Lys Phe Phe Val Ile	
85 90 95	
ggt atc aat aat ctc ggg ggt tgc cat ggc tcc acc ggg ccc atc agc	336
Gly Ile Asn Asn Leu Gly Gly Cys His Gly Ser Thr Gly Pro Ile Ser	
100 105 110	
atc aac gac aag acc ggt aaa cgc ttc ggc ccg gat ttt ccg ctg gta	384
Ile Asn Asp Lys Thr Gly Lys Arg Phe Gly Pro Asp Phe Pro Leu Val	
115 120 125	
acg aca gct gac tgg gca aaa acc tat gtc cgt ttc gcc gat cag ttc	432
Thr Thr Ala Asp Trp Ala Lys Thr Tyr Val Arg Phe Ala Asp Gln Phe	
130 135 140	
agc atc gac tgt ttt gcc gcc gtc atc ggt ggc agt ctg ggc ggg atg	480
Ser Ile Asp Cys Phe Ala Ala Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met	
145 150 155 160	
tcg gcc atg caa ctg gcg ctc gat gca ccg gaa aga gtt cgt cat gcc	528
Ser Ala Met Gln Leu Ala Leu Asp Ala Pro Glu Arg Val Arg His Ala	
165 170 175	
ata gtg gtt gca gca tcg gcc agg ctg aca gca cag aac atc gct ttc	576
Ile Val Val Ala Ala Ser Ala Arg Leu Thr Ala Gln Asn Ile Ala Phe	
180 185 190	
aat gat gtc gcg cgt cag gcg att ctg acc gac cct gat ttt cac gac	624
Asn Asp Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Asp Phe His Asp	
195 200 205	
ggc gac tat tat tcc cat ggc acc cac ccg cgc aga ggt tta cgc ctt	672
Gly Asp Tyr Tyr Ser His Gly Thr His Pro Arg Arg Gly Leu Arg Leu	
210 215 220	
gcc cgc atg ctt ggc cac atc acc tac ctg tcg gac gac tcc atg gcc	720
Ala Arg Met Leu Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met Ala	
225 230 235 240	
agc aaa ttc ggc cgt gag tta cgt aac ggc tcg ctt gct ttc aat tat	768
Ser Lys Phe Gly Arg Glu Leu Arg Asn Gly Ser Leu Ala Phe Asn Tyr	

245

250

255

gat gtg gaa ttc cag atc gaa tcc tat ctg cac cat cag ggc gac aaa 816
 Asp Val Glu Phe Gln Ile Glu Ser Tyr Leu His His Gln Gly Asp Lys
 260 265 270

ttt gcc gac ctg ttc gac gca aac act tat ctg ctg atg acg aag gcg 864
 Phe Ala Asp Leu Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr Lys Ala
 275 280 285

ctc gat tat ttc gat ccg gcc cag gat tac gat ggc aac ctg agt gca 912
 Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Gln Asp Tyr Asp Gly Asn Leu Ser Ala
 290 295 300

gcc ttt gcc cgt gca caa gcg gat ttt ctg gta ctt tcc ttt act tcc 960
 Ala Phe Ala Arg Ala Gln Ala Asp Phe Leu Val Leu Ser Phe Thr Ser
 305 310 315 320

gac tgg cgt ttt tcc ccg gag cgt tcg cgc gat atc gtc aag gca ctg 1008
 Asp Trp Arg Phe Ser Pro Glu Arg Ser Arg Asp Ile Val Lys Ala Leu
 325 330 335

ctc gac aac aaa ctg aat gtc agt tat gcg gaa att ccc tcc tcg tac 1056
 Leu Asp Asn Lys Leu Asn Val Ser Tyr Ala Glu Ile Pro Ser Ser Tyr
 340 345 350

gga cat gat tcc ttt ctc atg cag gac tac tat cac cag ttg ata 1104
 Gly His Asp Ser Phe Leu Met Gln Asp Asp Tyr Tyr His Gln Leu Ile
 355 360 365

cgt gct tac atg aac aat atc gct ctc tag 1134
 Arg Ala Tyr Met Asn Asn Ile Ala Leu
 370 375

<210> 22
 <211> 377
 <212> PRT
 <213> Nitrosomonas europaea

<400> 22
 Met Ser Thr Gln Asp Ser Asp Ser Ile Gly Ile Val Ser Ala Arg Arg
 1 5 10 15

Ala His Phe Asp Thr Pro Leu Ser Leu Lys Ser Gly Ala Val Leu Asp
 20 25 30

Ser Tyr Glu Leu Val Tyr Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Asp Arg
 35 40 45

Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val
 50 55 60

Ala Gly Val Tyr Ala Asp Asn Pro Lys Asn Thr Gly Trp Trp Asn Asn
 65 70 75 80

Met Ile Gly Pro Gly Lys Pro Val Asp Thr Arg Lys Phe Phe Val Ile
 85 90 95

Gly Ile Asn Asn Leu Gly Gly Cys His Gly Ser Thr Gly Pro Ile Ser
 100 105 110

Ile Asn Asp Lys Thr Gly Lys Arg Phe Gly Pro Asp Phe Pro Leu Val

115

120

125

Thr Thr Ala Asp Trp Ala Lys Thr Tyr Val Arg Phe Ala Asp Gln Phe
 130 135 140

Ser Ile Asp Cys Phe Ala Ala Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met
 145 150 155 160

Ser Ala Met Gln Leu Ala Leu Asp Ala Pro Glu Arg Val Arg His Ala
 165 170 175

Ile Val Val Ala Ala Ser Ala Arg Leu Thr Ala Gln Asn Ile Ala Phe
 180 185 190

Asn Asp Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Asp Phe His Asp
 195 200 205

Gly Asp Tyr Tyr Ser His Gly Thr His Pro Arg Arg Gly Leu Arg Leu
 210 215 220

Ala Arg Met Leu Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met Ala
 225 230 235 240

Ser Lys Phe Gly Arg Glu Leu Arg Asn Gly Ser Leu Ala Phe Asn Tyr
 245 250 255

Asp Val Glu Phe Gln Ile Glu Ser Tyr Leu His His Gln Gly Asp Lys
 260 265 270

Phe Ala Asp Leu Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr Lys Ala
 275 280 285

Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Gln Asp Tyr Asp Gly Asn Leu Ser Ala
 290 295 300

Ala Phe Ala Arg Ala Gln Ala Asp Phe Leu Val Leu Ser Phe Thr Ser
 305 310 315 320

Asp Trp Arg Phe Ser Pro Glu Arg Ser Arg Asp Ile Val Lys Ala Leu
 325 330 335

Leu Asp Asn Lys Leu Asn Val Ser Tyr Ala Glu Ile Pro Ser Ser Tyr
 340 345 350

Gly His Asp Ser Phe Leu Met Gln Asp Asp Tyr Tyr His Gln Leu Ile
 355 360 365

Arg Ala Tyr Met Asn Asn Ile Ala Leu
 370 375

<210> 23
 <211> 1077
 <212> DNA
 <213> Haemophilus influenzae

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(1074)
 <223> RHI02681

<400> 23
 atg tct gtg caa aat gta gtg ctt ttt gac aca cag cct tta act ctg 48

Met Ser Val Gln Asn Val Val Leu Phe Asp Thr Gln Pro Leu Thr Leu		
1 5 10 15		
atg ctt ggc ggc aaa ctt tcc cat att aat gtc gcg tat caa act tat	96	
Met Leu Gly Gly Lys Leu Ser His Ile Asn Val Ala Tyr Gln Thr Tyr		
20 25 30		
ggc acg ctc aat gcc gaa aaa aat aat gcg gta tta att tgc cac gct	144	
Gly Thr Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala		
35 40 45		
ttg act ggt gat gct gag cct tat ttc gat gat ggt cga gat ggc tgg	192	
Leu Thr Gly Asp Ala Glu Pro Tyr Phe Asp Asp Gly Arg Asp Gly Trp		
50 55 60		
tgg cag aat ttt atg gga gca ggt tta gca ttg gat acg gat cgt tat	240	
Trp Gln Asn Phe Met Gly Ala Gly Leu Ala Leu Asp Thr Asp Arg Tyr		
65 70 75 80		
ttt ttt att agc tcg aac gta tta ggt ggt tgc aag gga aca act ggg	288	
Phe Phe Ile Ser Ser Asn Val Leu Gly Gly Cys Lys Gly Thr Thr Gly		
85 90 95		
cct tca tca att aat ccg caa acg ggt aaa cct tat ggc agc caa ttt	336	
Pro Ser Ser Ile Asn Pro Gln Thr Gly Lys Pro Tyr Gly Ser Gln Phe		
100 105 110		
cct aat att gtt gtg caa gat att gtt aaa gta caa aaa gcc ttg ctt	384	
Pro Asn Ile Val Val Gln Asp Ile Val Lys Val Gln Lys Ala Leu Leu		
115 120 125		
gat cat ctt ggt att agc cat tta aaa gcc att att ggt gga tct ttt	432	
Asp His Leu Gly Ile Ser His Leu Lys Ala Ile Ile Gly Gly Ser Phe		
130 135 140		
ggc ggc atg caa gcg aat caa tgg gcg att gat tat cct gat ttt atg	480	
Gly Gly Met Gln Ala Asn Gln Trp Ala Ile Asp Tyr Pro Asp Phe Met		
145 150 155 160		
gat aat atc gtg aat ctt tgc tca tcc att tat ttt agt gct gaa gcc	528	
Asp Asn Ile Val Asn Leu Cys Ser Ser Ile Tyr Phe Ser Ala Glu Ala		
165 170 175		
ata ggt ttt aat cac gta atg cgt caa gcg gtc att aat gat ccc aat	576	
Ile Gly Phe Asn His Val Met Arg Gln Ala Val Ile Asn Asp Pro Asn		
180 185 190		
ttt aac ggc ggc gat tat tat gag ggt aca ccg cca gat caa ggg tta	624	
Phe Asn Gly Gly Asp Tyr Tyr Glu Gly Thr Pro Pro Asp Gln Gly Leu		
195 200 205		
tct att gca cgt atg cta ggt atg ctg act tac cgc acc gat tta caa	672	
Ser Ile Ala Arg Met Leu Gly Met Leu Thr Tyr Arg Thr Asp Leu Gln		
210 215 220		
ctt gcg aaa gcc ttt ggg cgt gcc aca aaa tca gat ggc agc ttt tgg	720	
Leu Ala Lys Ala Phe Gly Arg Ala Thr Lys Ser Asp Gly Ser Phe Trp		
225 230 235 240		
ggc gat tac ttt caa gtg gaa tcc tat ctt tct tac caa ggc aaa aaa	768	
Gly Asp Tyr Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Ser Tyr Gln Gly Lys Lys		
245 250 255		

ttc tta gaa cgt ttt gat gcc aat agt tat ttg cat ttg tta cgt gcg	816
Phe Leu Glu Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr Leu His Leu Leu Arg Ala	
260 265 270	
ttg gat atg tat gat cca agt ttg ggg tat gac aat gtt aaa gag gca	864
Ieu Asp Met Tyr Asp Pro Ser Leu Gly Tyr Asp Asn Val Lys Glu Ala	
275 280 285	
tta tca cgt att aaa gca cgc tat acg ttg gtt tct gtg aca acg gat	912
Ieu Ser Arg Ile Lys Ala Arg Tyr Thr Leu Val Ser Val Thr Thr Asp	
290 295 300	
caa ctt ttt aaa ccc att gat ctt tat aaa agt aaa cag ctt tta gag	960
Gln Leu Phe Lys Pro Ile Asp Leu Tyr Lys Ser Lys Gln Leu Leu Glu	
305 310 315 320	
caa agt gga gtc gat cta cat ttt tat gaa ttc cca tca gat tac gga	1008
Gln Ser Gly Val Asp Leu His Phe Tyr Glu Phe Pro Ser Asp Tyr Gly	
325 330 335	
cac gat gcg ttt tta gtg gat tat gat cag ttt gaa aaa cga att cga	1056
His Asp Ala Phe Leu Val Asp Tyr Asp Gln Phe Glu Lys Arg Ile Arg	
340 345 350	
gat ggt ttg gca ggt aat taa	1077
Asp Gly Leu Ala Gly Asn	
355	

<210> 24
 <211> 358
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 24	
Met Ser Val Gln Asn Val Val Leu Phe Asp Thr Gln Pro Leu Thr Leu	
1 5 10 15	
Met Leu Gly Gly Lys Leu Ser His Ile Asn Val Ala Tyr Gln Thr Tyr	
20 25 30	
Gly Thr Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala	
35 40 45	
Leu Thr Gly Asp Ala Glu Pro Tyr Phe Asp Asp Gly Arg Asp Gly Trp	
50 55 60	
Trp Gln Asn Phe Met Gly Ala Gly Leu Ala Leu Asp Thr Asp Arg Tyr	
65 70 75 80	
Phe Phe Ile Ser Ser Asn Val Leu Gly Gly Cys Lys Gly Thr Thr Gly	
85 90 95	
Pro Ser Ser Ile Asn Pro Gln Thr Gly Lys Pro Tyr Gly Ser Gln Phe	
100 105 110	
Pro Asn Ile Val Val Gln Asp Ile Val Lys Val Gln Lys Ala Leu Leu	
115 120 125	
Asp His Leu Gly Ile Ser His Leu Lys Ala Ile Ile Gly Gly Ser Phe	
130 135 140	
Gly Gly Met Gln Ala Asn Gln Trp Ala Ile Asp Tyr Pro Asp Phe Met	

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Asp Asn Ile Val Asn Leu Cys Ser Ser Ile Tyr Phe Ser Ala Glu Ala			
165	170	175	

Ile Gly Phe Asn His Val Met Arg Gln Ala Val Ile Asn Asp Pro Asn			
180	185	190	

Phe Asn Gly Gly Asp Tyr Tyr Glu Gly Thr Pro Pro Asp Gln Gly Leu			
195	200	205	

Ser Ile Ala Arg Met Leu Gly Met Leu Thr Tyr Arg Thr Asp Leu Gln			
210	215	220	

Leu Ala Lys Ala Phe Gly Arg Ala Thr Lys Ser Asp Gly Ser Phe Trp			
225	230	235	240

Gly Asp Tyr Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Ser Tyr Gln Gly Lys Lys			
245	250	255	

Phe Leu Glu Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr Leu His Leu Leu Arg Ala			
260	265	270	

Leu Asp Met Tyr Asp Pro Ser Leu Gly Tyr Asp Asn Val Lys Glu Ala			
275	280	285	

Leu Ser Arg Ile Lys Ala Arg Tyr Thr Leu Val Ser Val Thr Thr Asp			
290	295	300	

Gln Leu Phe Lys Pro Ile Asp Leu Tyr Lys Ser Lys Gln Leu Leu Glu			
305	310	315	320

Gln Ser Gly Val Asp Leu His Phe Tyr Glu Phe Pro Ser Asp Tyr Gly			
325	330	335	

His Asp Ala Phe Leu Val Asp Tyr Asp Gln Phe Glu Lys Arg Ile Arg			
340	345	350	

Asp Gly Leu Ala Gly Asn			
355			

<210> 25

<211> 1296

<212> DNA

<213> Halobacterium sp

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1293)

<223> ETX_HALN1

<400> 25

atg ggc cac gat cac gga ctc cac acc aac agt gta cac gac ggc cag	48		
Met Gly His Asp His Gly Leu His Thr Asn Ser Val His Ala Gly Gln			
1	5	10	15

cgc gtc gac ccg gcc acg ggc gct cgc gcg ccg cca ctc tac cag acc	96		
Arg Val Asp Pro Ala Thr Gly Ala Arg Ala Pro Pro Leu Tyr Gln Thr			
20	25	30	

acg tcg tac gcc ttc gag gac agc gac gat gcc gcc ggc cag ttc gcc	144		
Thr Ser Tyr Ala Phe Glu Asp Ser Ala Asp Ala Ala Gly Gln Phe Ala			

35

40

45

ctt gag cgg gac ggc tac atc tac tcg cgg ctg atg aac ccc acc gtg	192
Leu Glu Arg Asp Gly Tyr Ile Tyr Ser Arg Leu Met Asn Pro Thr Val	
50 55 60	
gag acc ctc cag gac cgc ctc gcc ctc gaa ggc ggc gtc ggc gcg	240
Glu Thr Leu Gln Asp Arg Leu Ala Ala Leu Glu Gly Val Gly Ala	
65 70 75 80	
gtc gcc acc gcg tcc gga atg gcc gcc ctg gac ctc gcg acg ttc ctg	288
Val Ala Thr Ala Ser Gly Met Ala Ala Leu Asp Leu Ala Thr Phe Leu	
85 90 95	
ctg gca cgc gcc ggc gac tcc gtc gtc gcc gac ctc tac ggc	336
Leu Ala Arg Ala Gly Asp Ser Val Val Ala Ala Ser Asp Leu Tyr Gly	
100 105 110	
ggc acc gtg acg tac ctc acg cac acg gcc cag cgc cgc ggc gtc gac	384
Gly Thr Val Thr Tyr Leu Thr His Ser Ala Gln Arg Arg Gly Val Asp	
115 120 125	
acg acg ttc gtg gac gtc ctc gac tac gac gcc tac gcc gac gcc atc	432
Thr Thr Phe Val Asp Val Leu Asp Tyr Asp Ala Tyr Ala Asp Ala Ile	
130 135 140	
gac gcc gac acc gcc tac gtg ctc gtc gaa acc gtc ggc aac ccc acg	480
Asp Ala Asp Thr Ala Tyr Val Leu Val Glu Thr Val Gly Asn Pro Ser	
145 150 155 160	
ctg atc acg ccc gac ctc gaa cgc atc gcc gac atc gcc cac gac aac	528
Leu Ile Thr Pro Asp Leu Glu Arg Ile Ala Asp Ile Ala His Asp Asn	
165 170 175	
ggc gtt ccc ctg ctg gtg gac aac acg ttc gcg acc ccc gcg ctg gca	576
Gly Val Pro Leu Leu Val Asp Asn Thr Phe Ala Thr Pro Ala Leu Ala	
180 185 190	
acc ccg atc gac cac ggt gcc gac atc gtc tgg cac tcc acc acc aaa	624
Thr Pro Ile Asp His Gly Ala Asp Ile Val Trp His Ser Thr Thr Lys	
195 200 205	
tgg atc cac ggt gcc ggc acc acc gtc ggc ggc gcg ctc gtc gac gcc	672
Trp Ile His Gly Ala Gly Thr Thr Val Gly Gly Ala Leu Val Asp Ala	
210 215 220	
ggc agc ttc gac tgg gac gcc cac gcc gac tac ccc gag atc gcc	720
Gly Ser Phe Asp Trp Asp Ala His Ala Ala Asp Tyr Pro Glu Ile Ala	
225 230 235 240	
cag gaa aac ccc gcc tac cac ggc gtg acc ttc acc gat cgc ttc ggg	768
Gln Glu Asn Pro Ala Tyr His Gly Val Thr Phe Thr Asp Arg Phe Gly	
245 250 255	
gac gcc gcg ttc acg tac gac gca atc gcc cgc ggg ctg cgc gat ctg	816
Asp Ala Ala Phe Thr Tyr Ala Ala Ile Ala Arg Gly Leu Arg Asp Leu	
260 265 270	
ggc aac cag cag tcg ccg ttc gac gcc tgg cag acc ctc cag aag ctc	864
Gly Asn Gln Gln Ser Pro Phe Asp Ala Trp Gln Thr Leu Gln Lys Leu	
275 280 285	
gaa acg ctc ccg ctg cgc atg caa caa cac tgc cgg aac gcc cag ctc	912

Glu	Thr	Leu	Pro	Leu	Arg	Met	Gln	Gln	His	Cys	Arg	Asn	Ala	Gln	Leu	
290				295					300							
gtc	gcc	gaa	cac	ctc	cg	gac	cac	ccc	aac	gtg	tcg	tgg	gtc	aac	tac	960
Val	Ala	Glu	His	Leu	Arg	Asp	His	Pro	Asn	Val	Ser	Trp	Val	Asn	Tyr	
305		310			315					320						
ccc	ggg	ctg	gcc	gac	cac	gac	acc	cac	gac	aac	gca	acc	acc	tac	ctc	1008
Pro	Gly	Leu	Ala	Asp	His	Asp	Thr	His	Asp	Asn	Ala	Thr	Thr	Tyr	Leu	
325			330			335										
gat	tcg	ggc	tac	gga	ggc	atg	ctc	acg	tgc	ggc	gtc	gag	gac	ggc	tac	1056
Asp	Ser	Gly	Tyr	Gly	Gly	Met	Leu	Thr	Phe	Gly	Val	Glu	Asp	Gly	Tyr	
340			345			350										
gag	gcc	gcc	caa	tcg	gtc	acc	gag	gag	acc	acg	ctt	gcc	agc	ctg	ctg	1104
Glu	Ala	Ala	Gln	Ser	Val	Thr	Glu	Glu	Thr	Thr	Leu	Ala	Ser	Leu	Leu	
355			360			365										
gcg	aac	gtc	ggc	gac	gcc	aaa	acg	ctc	gtg	atc	cac	ccc	gcc	tcc	acc	1152
Ala	Asn	Val	Gly	Asp	Ala	Lys	Thr	Leu	Val	Ile	His	Pro	Ala	Ser	Thr	
370			375			380										
acc	cac	cag	cag	ctc	acc	ccc	gaa	gcc	cag	cgc	gcc	ggc	ggt	gtg	cgc	1200
Thr	His	Gln	Gln	Leu	Thr	Pro	Glu	Ala	Gln	Arg	Ala	Gly	Gly	Val	Arg	
385			390			395			395			400				
ccc	gag	atg	gtg	cg	gt	tc	gtc	ggc	atc	gag	gac	ccc	gcc	gac	atc	1248
Pro	Glu	Met	Val	Arg	Val	Ser	Val	Gly	Ile	Glu	Asp	Pro	Ala	Asp	Ile	
405				410			415									
gtc	g	g	g	ctc	gaa	acc	gcc	atc	gag	gcc	g	gtc	gg	tcg	g	1293
Val	Ala	Asp	L	eu	Glu	Thr	Ala	Ile	Glu	Ala	Ala	Val	Gly	Ser	Ala	
420				425			430									
tag																1296

<210> 26
 <211> 431
 <212> PRT
 <213> Halobacterium sp

<400> 26																
Met	Gly	His	Asp	His	Gly	Leu	His	Thr	Asn	Ser	Val	His	Ala	Gly	Gln	
1				5				10				15				
Arg	Val	Asp	Pro	Ala	Thr	Gly	Ala	Arg	Ala	Pro	Pro	Leu	Tyr	Gln	Thr	
	20				25				30							
Thr	Ser	Tyr	Ala	Phe	Glu	Asp	Ser	Ala	Asp	Ala	Ala	Gly	Gln	Phe	Ala	
	35			40			45									
Leu	Glu	Arg	Asp	Gly	Tyr	Ile	Tyr	Ser	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Thr	Val	
	50			55			60									
Glu	Thr	Leu	Gln	Asp	Arg	Leu	Ala	Ala	Leu	Glu	Gly	Gly	Val	Gly	Ala	
	65			70			75		80							
Val	Ala	Thr	Ala	Ser	Gly	Met	Ala	Ala	Leu	Asp	Leu	Ala	Thr	Phe	Leu	
	85				90			95								
Leu	Ala	Arg	Ala	Gly	Asp	Ser	Val	Val	Ala	Ala	Ser	Asp	Leu	Tyr	Gly	

100

105

110

Gly Thr Val Thr Tyr Leu Thr His Ser Ala Gln Arg Arg Gly Val Asp
115 120 125

Thr Thr Phe Val Asp Val Leu Asp Tyr Asp Ala Tyr Ala Asp Ala Ile
130 135 140

Asp Ala Asp Thr Ala Tyr Val Leu Val Glu Thr Val Gly Asn Pro Ser
145 150 155 160

Leu Ile Thr Pro Asp Leu Glu Arg Ile Ala Asp Ile Ala His Asp Asn
165 170 175

Gly Val Pro Leu Leu Val Asp Asn Thr Phe Ala Thr Pro Ala Leu Ala
180 185 190

Thr Pro Ile Asp His Gly Ala Asp Ile Val Trp His Ser Thr Thr Lys
195 200 205

Trp Ile His Gly Ala Gly Thr Thr Val Gly Gly Ala Leu Val Asp Ala
210 215 220

Gly Ser Phe Asp Trp Asp Ala His Ala Asp Tyr Pro Glu Ile Ala
225 230 235 240

Gln Glu Asn Pro Ala Tyr His Gly Val Thr Phe Thr Asp Arg Phe Gly
245 250 255

Asp Ala Ala Phe Thr Tyr Ala Ala Ile Ala Arg Gly Leu Arg Asp Leu
260 265 270

Gly Asn Gln Gln Ser Pro Phe Asp Ala Trp Gln Thr Leu Gln Lys Leu
275 280 285

Glu Thr Leu Pro Leu Arg Met Gln Gln His Cys Arg Asn Ala Gln Leu
290 295 300

Val Ala Glu His Leu Arg Asp His Pro Asn Val Ser Trp Val Asn Tyr
305 310 315 320

Pro Gly Leu Ala Asp His Asp Thr His Asp Asn Ala Thr Thr Tyr Leu
325 330 335

Asp Ser Gly Tyr Gly Gly Met Leu Thr Phe Gly Val Glu Asp Gly Tyr
340 345 350

Glu Ala Ala Gln Ser Val Thr Glu Glu Thr Thr Leu Ala Ser Leu Leu
355 360 365

Ala Asn Val Gly Asp Ala Lys Thr Leu Val Ile His Pro Ala Ser Thr
370 375 380

Thr His Gln Gln Leu Thr Pro Glu Ala Gln Arg Ala Gly Gly Val Arg
385 390 395 400

Pro Glu Met Val Arg Val Ser Val Gly Ile Glu Asp Pro Ala Asp Ile
405 410 415

Val Ala Asp Leu Glu Thr Ala Ile Glu Ala Ala Val Gly Ser Ala
420 425 430

<210> 27
 <211> 1143
 <212> DNA
 <213> *Thermus thermophilus*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1140)
 <223> RTT00268

<400> 27
 atg agc gag atc gcc ctc gag gcc tgg ggg gag cac gag gcc ctc ctc 48
 Met Ser Glu Ile Ala Leu Glu Ala Trp Gly Glu His Glu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 ctc aag ccc ccc cgc tcc ccc ctc tcc atc ccc ccg ccc aag ccc cgc 96
 Leu Lys Pro Pro Arg Ser Pro Leu Ser Ile Pro Pro Pro Lys Pro Arg
 20 25 30
 acc gcc gtc ctc ttc ccc agg cgg gag ggg ttc tac acg gag ctc ggg 144
 Thr Ala Val Leu Phe Pro Arg Arg Glu Gly Phe Tyr Thr Glu Leu Gly
 35 40 45
 ggg tac ctc ccc gag gtg cgc ctc cgc ttt gag acc tac ggg acc ctc 192
 Gly Tyr Leu Pro Glu Val Arg Leu Arg Phe Glu Thr Tyr Gly Thr Leu
 50 55 60
 tcc cgc agg cgg gat aac gcc gtc ctc gtc ttc cac gcc ctc acg ggg 240
 Ser Arg Arg Arg Asp Asn Ala Val Leu Val Phe His Ala Leu Thr Gly
 65 70 75 80
 agc gcc cac ctg gcg ggg acc tac gac gag gaa acc ttt aga agc ctc 288
 Ser Ala His Leu Ala Gly Thr Tyr Asp Glu Glu Thr Phe Arg Ser Leu
 85 90 95
 tcc ccc ctg gag cag gcc ttc ggc cgg gaa ggg tgg tgg gac agc ctg 336
 Ser Pro Leu Glu Gln Ala Phe Gly Arg Glu Gly Trp Trp Asp Ser Leu
 100 105 110
 gtg ggg ccc ggg cgg atc ctg gac ccc gcc ctc tac tac gtg gtc tcc 384
 Val Gly Pro Gly Arg Ile Leu Asp Pro Ala Leu Tyr Tyr Val Val Ser
 115 120 125
 gcc aac cac ctg gga agc tgc tac ggc tcc acc ggc ccc ctc tcc cta 432
 Ala Asn His Leu Gly Ser Cys Tyr Gly Ser Thr Gly Pro Leu Ser Leu
 130 135 140
 gac ccc cac acg ggc cgc ccc tac ggg agg gac ttc cct ccc ctt acc 480
 Asp Pro His Thr Gly Arg Pro Tyr Gly Arg Asp Phe Pro Pro Leu Thr
 145 150 155 160
 atc cgc gac ctg gcc cgg cgc cag gcg agg ctt ctg gac cat ctg ggg 528
 Ile Arg Asp Leu Ala Arg Ala Gln Ala Arg Leu Leu Asp His Leu Gly
 165 170 175
 gtg gag aag gcc atc gtc atc ggg ggg agc ctc ggg ggg atg gtg gcc 576
 Val Glu Lys Ala Ile Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Val Ala
 180 185 190
 ctg gag ttc gcc ctc atg tac ccg gag agg gtg aag aag ctc gtg gtc 624
 Leu Glu Phe Ala Leu Met Tyr Pro Glu Arg Val Lys Lys Leu Val Val
 195 200 205

ctg	gct	gcc	ccc	gca	cg	ca	gg	cc	tgg	gct	cg	gg	cc	ttc	aa	ca	ca	672
Leu	Ala	Ala	Pro	Ala	Arg	His	Gly	Pro	Trp	Ala	Arg	Ala	Phe	Asn	His			
210				215						220								
ctc	tcc	cg	cag	gg	atc	ctc	caa	gac	ccc	gag	ta	cag	aag	gg	aa	720		
Leu	Ser	Arg	Gln	Ala	Ile	Leu	Gln	Asp	Pro	Glu	Tyr	Gln	Lys	Gly	Asn			
225				230						235					240			
cct	gcc	ccc	aag	gg	atg	gg	ctc	gg	gg	atc	gg	atg	atg	ag	768			
Pro	Ala	Pro	Lys	Gly	Met	Ala	Leu	Ala	Arg	Gly	Ile	Ala	Met	Met	Ser			
245					250						255							
ta	cg	gg	cc	gag	gg	ttt	gag	gg	cc	tg	gg	gg	gag	cc	gag	816		
Tyr	Arg	Ala	Pro	Glu	Gly	Phe	Glu	Ala	Arg	Trp	Gly	Ala	Glu	Pro	Glu			
260				265							270							
ctc	gg	gaa	atc	ca	ctg	gac	ta	cag	gg	gag	aag	ttc	ctc	gg	cg	864		
Leu	Gly	Ile	His	Leu	Asp	Tyr	Gln	Gly	Glu	Lys	Phe	Leu	Arg	Arg				
275				280						285								
ttc	ca	gg	ag	ta	ctc	gtc	ctc	tcc	gg	gg	at	gac	aa	ca	912			
Phe	His	Ala	Glu	Ser	Tyr	Leu	Val	Leu	Ser	Arg	Ala	Met	Asp	Asn	His			
290				295						300								
gac	gt	gg	cg	gg	gg	gt	gag	gag	gg	gg	ctg	aag	cg	ctc	960			
Asp	Val	Gly	Arg	Gly	Arg	Gly	Gly	Val	Glu	Glu	Ala	Leu	Lys	Arg	Ile			
305				310						315				320				
agg	gg	atc	cc	tcc	ctc	tcc	gt	gg	att	gac	acc	gac	ctc	ctc	ta	1008		
Arg	Ala	Ile	Pro	Ser	Leu	Phe	Val	Gly	Ile	Asp	Thr	Asp	Leu	Leu	Tyr			
325									330				335					
ccc	gg	tgg	gag	gt	agg	ca	gg	ta	1056									
Pro	Ala	Trp	Glu	Val	Arg	Gln	Ala	Ala	Lys	Ala	Ala	Gly	Ala	Arg	Tyr			
340				345						350								
cg	gag	atc	aaa	agc	cc	ca	gg	ca	gg	1104								
Arg	Glu	Ile	Lys	Ser	Pro	His	Gly	His	Asp	Ala	Phe	Leu	Ile	Glu	Thr			
355				360						365								
gac	ca	gt	gag	gg	atc	ctg	gac	gg	ttc	ctc	cc	tg			1143			
Asp	Gln	Val	Glu	Glu	Ile	Leu	Asp	Ala	Phe	Leu	Pro							
370				375						380								

<210> 28
 <211> 380
 <212> PRT
 <213> *Thermus thermophilus*

<400> 28
 Met Ser Glu Ile Ala Leu Glu Ala Trp Gly Glu His Glu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Lys Pro Pro Arg Ser Pro Leu Ser Ile Pro Pro Pro Lys Pro Arg
 20 25 30
 Thr Ala Val Leu Phe Pro Arg Arg Glu Gly Phe Tyr Thr Glu Leu Gly
 35 40 45
 Gly Tyr Leu Pro Glu Val Arg Leu Arg Phe Glu Thr Tyr Gly Thr Leu
 50 55 60

Ser Arg Arg Arg Asp Asn Ala Val Leu Val Phe His Ala Leu Thr Gly
 65 70 75 80

Ser Ala His Leu Ala Gly Thr Tyr Asp Glu Glu Thr Phe Arg Ser Leu
 85 90 95

Ser Pro Leu Glu Gln Ala Phe Gly Arg Glu Gly Trp Trp Asp Ser Leu
 100 105 110

Val Gly Pro Gly Arg Ile Leu Asp Pro Ala Leu Tyr Tyr Val Val Ser
 115 120 125

Ala Asn His Leu Gly Ser Cys Tyr Gly Ser Thr Gly Pro Leu Ser Leu
 130 135 140

Asp Pro His Thr Gly Arg Pro Tyr Gly Arg Asp Phe Pro Pro Leu Thr
 145 150 155 160

Ile Arg Asp Leu Ala Arg Ala Gln Ala Arg Leu Leu Asp His Leu Gly
 165 170 175

Val Glu Lys Ala Ile Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Val Ala
 180 185 190

Leu Glu Phe Ala Leu Met Tyr Pro Glu Arg Val Lys Lys Leu Val Val
 195 200 205

Leu Ala Ala Pro Ala Arg His Gly Pro Trp Ala Arg Ala Phe Asn His
 210 215 220

Leu Ser Arg Gln Ala Ile Leu Gln Asp Pro Glu Tyr Gln Lys Gly Asn
 225 230 235 240

Pro Ala Pro Lys Gly Met Ala Leu Ala Arg Gly Ile Ala Met Met Ser
 245 250 255

Tyr Arg Ala Pro Glu Gly Phe Glu Ala Arg Trp Gly Ala Glu Pro Glu
 260 265 270

Leu Gly Glu Ile His Leu Asp Tyr Gln Gly Glu Lys Phe Leu Arg Arg
 275 280 285

Phe His Ala Glu Ser Tyr Leu Val Leu Ser Arg Ala Met Asp Asn His
 290 295 300

Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Val Glu Glu Ala Leu Lys Arg Leu
 305 310 315 320

Arg Ala Ile Pro Ser Leu Phe Val Gly Ile Asp Thr Asp Leu Leu Tyr
 325 330 335

Pro Ala Trp Glu Val Arg Gln Ala Ala Lys Ala Ala Gly Ala Arg Tyr
 340 345 350

Arg Glu Ile Lys Ser Pro His Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Glu Thr
 355 360 365

Asp Gln Val Glu Glu Ile Leu Asp Ala Phe Leu Pro
 370 375 380

<212> DNA

<213> Deinococcus radiodurans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1002)

<223> RDR01287

<400> 29

gtg acc gcc gtg ctc gcg ggc cac gcc tct gcc ctg ctg ctg acc gaa 48
 Val Thr Ala Val Leu Ala Gly His Ala Ser Ala Leu Leu Leu Thr Glu
 1 5 10 15

gaa ccc gac tgt tcg ggg ccg cag acg gtc gtt ctc ttc cgg cgt gag 96
 Glu Pro Asp Cys Ser Gly Pro Gln Thr Val Val Leu Phe Arg Arg Glu
 20 25 30

ccg ctg ctc gac tgc gga cgg gcg ctg agc gac gtg cgg gtg gcc 144
 Pro Leu Leu Leu Asp Cys Gly Arg Ala Leu Ser Asp Val Arg Val Ala
 35 40 45

ttt cac acc tac ggc acg ccg cgc gcc gac gac ctg gtg ctg cac 192
 Phe His Thr Tyr Gly Thr Pro Arg Ala Asp Ala Thr Leu Val Leu His
 50 55 60

gcc ctg acc ggc gac agc gcg gtg cac gag tgg tgg ccc gac ttt ctg 240
 Ala Leu Thr Gly Asp Ser Ala Val His Glu Trp Trp Pro Asp Phe Leu
 65 70 75 80

ggc gcg ggc cgg cca ctg gac ccg gca gac gac tac gtg gtg tgc gcc 288
 Gly Ala Gly Arg Pro Leu Asp Pro Ala Asp Asp Tyr Val Val Cys Ala
 85 90 95

aac gtc ctc ggc ggg tgc gcc ggc acg acg agc gac gct gaa ctc gcc 336
 Asn Val Leu Gly Gly Cys Ala Gly Thr Thr Ser Ala Ala Glu Leu Ala
 100 105 110

gcc acc tgt tcc gga ccg gtg ccg ctc agc ctg cgc gac atg gcc cgg 384
 Ala Thr Cys Ser Gly Pro Val Pro Leu Ser Leu Arg Asp Met Ala Arg
 115 120 125

gtg ggg cgc gcc ctg ctg gat tct ctc ggc gtg cga cgg gtg cgg gtc 432
 Val Gly Arg Ala Leu Leu Asp Ser Leu Gly Val Arg Arg Val Arg Val
 130 135 140

atc ggc gcg agc atg ggc ggg atg ctc gcc tac gcc tgg ctg ctg gag 480
 Ile Gly Ala Ser Met Gly Gly Met Leu Ala Tyr Ala Trp Leu Leu Glu
 145 150 155 160

tgc ccc gac ctg gtg gaa aag gcc gtg att ata gga gcc ccc gcg cgg 528
 Cys Pro Asp Leu Val Glu Lys Ala Val Ile Ile Gly Ala Pro Ala Arg
 165 170 175

cac tcg ccc tgg gct att gga ctg aac acg gcg gcc cgc agc gcc att 576
 His Ser Pro Trp Ala Ile Gly Leu Asn Thr Ala Ala Arg Ser Ala Ile
 180 185 190

gcc ctc gct ccc ggc ggc gag ggg ctg aag gtg gcg cgc cag att gcc 624
 Ala Leu Ala Pro Gly Gly Glu Gly Leu Lys Val Ala Arg Gln Ile Ala
 195 200 205

atg ctc agt tac cgc agc ccc gaa agc cta agc cgc acg cag gcg ggg 672
 Met Leu Ser Tyr Arg Ser Pro Glu Ser Leu Ser Arg Thr Gln Ala Gly

210

215

220

cag cgc gtg ccg ggg gtg ccc gcc gtt acg tct tac ctg cac tac caa 720
 Gln Arg Val Pro Gly Val Pro Ala Val Thr Ser Tyr Leu His Tyr Gln
 225 230 235 240

ggc gaa aaa ctc gcc gcc ccg ttc gac gag cag acc tac tgc gcc ctc 768
 Gly Glu Lys Leu Ala Ala Arg Phe Asp Glu Gln Thr Tyr Cys Ala Leu
 245 250 255

acc tgg gcg atg gac gcc ttt cag ccg agc agc gcc gac ctc aaa gcg 816
 Thr Trp Ala Met Asp Ala Phe Gln Pro Ser Ser Ala Asp Leu Lys Ala
 260 265 270

gtg cgc gcg ccg gta ctc gtc gtc ggc atc tcc agc gat ctg ctc tac 864
 Val Arg Ala Pro Val Leu Val Val Gly Ile Ser Ser Asp Leu Leu Tyr
 275 280 285

ccc gcc gcc gag gtc cgc gcc tgc gcc gcc gag ctt ccc cac gcc gac 912
 Pro Ala Ala Glu Val Arg Ala Cys Ala Ala Glu Leu Pro His Ala Asp
 290 295 300

tac tgg gaa ctg ggc agc att cac ggc cac gac gcc ttt ttg atg gac 960
 Tyr Trp Glu Leu Gly Ser Ile His Gly His Asp Ala Phe Leu Met Asp
 305 310 315 320

cca cag gac ttg ccg gag cgg gtg ggg gcg ttt ctc agg agt 1002
 Pro Gln Asp Leu Pro Glu Arg Val Gly Ala Phe Leu Arg Ser
 325 330

tga 1005

<210> 30

<211> 334

<212> PRT

<213> Deinococcus radiodurans

<400> 30

Val Thr Ala Val Leu Ala Gly His Ala Ser Ala Leu Leu Leu Thr Glu
 1 5 10 15

Glu Pro Asp Cys Ser Gly Pro Gln Thr Val Val Leu Phe Arg Arg Glu
 20 25 30

Pro Leu Leu Leu Asp Cys Gly Arg Ala Leu Ser Asp Val Arg Val Ala
 35 40 45

Phe His Thr Tyr Gly Thr Pro Arg Ala Asp Ala Thr Leu Val Leu His
 50 55 60

Ala Leu Thr Gly Asp Ser Ala Val His Glu Trp Trp Pro Asp Phe Leu
 65 70 75 80

Gly Ala Gly Arg Pro Leu Asp Pro Ala Asp Asp Tyr Val Val Cys Ala
 85 90 95

Asn Val Leu Gly Gly Cys Ala Gly Thr Thr Ser Ala Ala Glu Leu Ala
 100 105 110

Ala Thr Cys Ser Gly Pro Val Pro Leu Ser Leu Arg Asp Met Ala Arg
 115 120 125

Val Gly Arg Ala Leu Leu Asp Ser Leu Gly Val Arg Arg Val Arg Val
 130 135 140

Ile Gly Ala Ser Met Gly Gly Met Leu Ala Tyr Ala Trp Leu Leu Glu
 145 150 155 160

Cys Pro Asp Leu Val Glu Lys Ala Val Ile Ile Gly Ala Pro Ala Arg
 165 170 175

His Ser Pro Trp Ala Ile Gly Leu Asn Thr Ala Ala Arg Ser Ala Ile
 180 185 190

Ala Leu Ala Pro Gly Gly Glu Gly Leu Lys Val Ala Arg Gln Ile Ala
 195 200 205

Met Leu Ser Tyr Arg Ser Pro Glu Ser Leu Ser Arg Thr Gln Ala Gly
 210 215 220

Gln Arg Val Pro Gly Val Pro Ala Val Thr Ser Tyr Leu His Tyr Gln
 225 230 235 240

Gly Glu Lys Leu Ala Ala Arg Phe Asp Glu Gln Thr Tyr Cys Ala Leu
 245 250 255

Thr Trp Ala Met Asp Ala Phe Gln Pro Ser Ser Ala Asp Leu Lys Ala
 260 265 270

Val Arg Ala Pro Val Leu Val Val Gly Ile Ser Ser Asp Leu Leu Tyr
 275 280 285

Pro Ala Ala Glu Val Arg Ala Cys Ala Ala Glu Leu Pro His Ala Asp
 290 295 300

Tyr Trp Glu Leu Gly Ser Ile His Gly His Asp Ala Phe Leu Met Asp
 305 310 315 320

Pro Gln Asp Leu Pro Glu Arg Val Gly Ala Phe Leu Arg Ser
 325 330

<210> 31
 <211> 1461
 <212> DNA
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1458)
 <223> RSC08123

<400> 31
 atg tcg cat act tta aaa tcg aaa acg ctc caa gag ctg gac att gag 48
 Met Ser His Thr Leu Lys Ser Lys Thr Leu Gln Glu Leu Asp Ile Glu
 1 5 10 15

gag att aag gaa act aac cca ttg ctc aaa cta gtt caa ggg cag agg 96
 Glu Ile Lys Glu Thr Asn Pro Leu Leu Lys Leu Val Gln Gly Gln Arg
 20 25 30

att gtt caa gtt ccg gaa cta gtg ctt gag tct ggc gtg gtc ata aat 144
 Ile Val Gln Val Pro Glu Leu Val Leu Glu Ser Gly Val Val Ile Asn
 35 40 45

aat ttc cct att gct tat aag acg tgg ggt aca ctg aat gaa gct ggt	50	55	60	192
Asn Phe Pro Ile Ala Tyr Lys Thr Trp Gly Thr Leu Asn Glu Ala Gly				
gat aat gtt ctg gta att tgt cat gcc ttg act ggg tcc gca gat gtt	65	70	75	240
Asp Asn Val Leu Val Ile Cys His Ala Leu Thr Gly Ser Ala Asp Val				
gct gac tgg tgg ggc cct ctt ctg ggt aac gac tta gca ttc gac cca	85	90	95	288
Ala Asp Trp Trp Gly Pro Leu Leu Gly Asn Asp Leu Ala Phe Asp Pro				
tca agg ttt ttt atc ata tgt tta aac tct atg ggc tct cca tat ggg	100	105	110	336
Ser Arg Phe Phe Ile Ile Cys Leu Asn Ser Met Gly Ser Pro Tyr Gly				
tct ttt tcg cca tta acg ata aat gag gag acg ggc gtt aga tat gga	115	120	125	384
Ser Phe Ser Pro Leu Thr Ile Asn Glu Glu Thr Gly Val Arg Tyr Gly				
ccc gaa ttc cca tta tgt act gtg cgc gat gac gtt aga gct cac aga	130	135	140	432
Pro Glu Phe Pro Leu Cys Thr Val Arg Asp Asp Val Arg Ala His Arg				
att gtt ctg gat tct ctg gga gta aag tca ata gcc tgt gtt att ggt	145	150	155	480
Ile Val Leu Asp Ser Leu Gly Val Lys Ser Ile Ala Cys Val Ile Gly				
ggc tct atg ggg ggg atg ctg agt ttg gaa tgg gct gcc atg tat ggt	165	170	175	528
Gly Ser Met Gly Gly Met Leu Ser Leu Glu Trp Ala Ala Met Tyr Gly				
aag gaa tat gtg aag aat atg gtt gct ctg gcg aca tca gca aga cat	180	185	190	576
Lys Glu Tyr Val Lys Asn Met Val Ala Leu Ala Thr Ser Ala Arg His				
tct gcc tgg tgc ata tcg tgg tct gag gct caa aga caa tcg att tac	195	200	205	624
Ser Ala Trp Cys Ile Ser Trp Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ser Ile Tyr				
tca gat ccc aac tac ttg gac ggg tac tat ccg gta gag gag caa cct	210	215	220	672
Ser Asp Pro Asn Tyr Leu Asp Gly Tyr Tyr Pro Val Glu Glu Gln Pro				
gtg gcc gga cta tcg gct gca cgt atg tct gca ttg ttg acg tac agg	225	230	235	720
Val Ala Gly Ile Ser Ala Ala Arg Met Ser Ala Leu Leu Thr Tyr Arg				
aca aga aac agt ttc gag aac aaa ttc tcc aga aga tct cct tca ata	245	250	255	768
Thr Arg Asn Ser Phe Glu Asn Lys Phe Ser Arg Arg Ser Pro Ser Ile				
gca caa caa caa aaa gct caa agg gag gag aca cgc aaa cca tct act	260	265	270	816
Ala Gln Gln Gln Lys Ala Gln Arg Glu Glu Thr Arg Lys Pro Ser Thr				
gtc agc gaa cac tcc cta caa atc cac aat gat ggg tat aaa aca aaa	275	280	285	864
Val Ser Glu His Ser Leu Gln Ile His Asn Asp Gly Tyr Lys Thr Lys				
gcc agc act gcc atc gct ggc att tct ggg caa aaa ggt caa agc gtg	290	295	300	912
Ala Ser Thr Ala Ile Ala Gly Ile Ser Gly Gln Lys Gly Gln Ser Val				

gtg tcc acc gca tct tct tcg gat tca ttg aat tct tca aca tcg atg		960
Val Ser Thr Ala Ser Ser Asp Ser Leu Asn Ser Ser Thr Ser Met		
305 310 315 320		
act tcg gta agt tct gta acg ggt gaa gtg aag gac ata aag cct gcg		1008
Thr Ser Val Ser Ser Val Thr Gly Glu Val Lys Asp Ile Lys Pro Ala		
325 330 335		
cag acg tat ttt tct gca caa agt tac ttg agg tac cag ggc aca aag		1056
Gln Thr Tyr Phe Ser Ala Gln Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Thr Lys		
340 345 350		
ttc atc aat agg ttc gac gcc aat tgt tac att gcc atc aca cgt aaa		1104
Phe Ile Asn Arg Phe Asp Ala Asn Cys Tyr Ile Ala Ile Thr Arg Lys		
355 360 365		
ctg gat acg cac gat ttg gca aga gac aga gta gat gac atc act gag		1152
Leu Asp Thr His Asp Leu Ala Arg Asp Arg Val Asp Asp Ile Thr Glu		
370 375 380		
gtc ctt tct acc atc caa caa cca tcc ctg atc atc ggt atc caa tct		1200
Val Leu Ser Thr Ile Gln Gln Pro Ser Leu Ile Ile Gly Ile Gln Ser		
385 390 395 400		
gat gga ctg ttc aca tat tca gaa caa gaa ttt ttg gct gag cac ata		1248
Asp Gly Leu Phe Thr Tyr Ser Glu Gln Glu Phe Leu Ala Glu His Ile		
405 410 415		
ccg aag tcg caa tta gaa aaa att gaa tct ccc gaa ggc cac gat gcc		1296
Pro Lys Ser Gln Leu Glu Lys Ile Glu Ser Pro Glu Gly His Asp Ala		
420 425 430		
ttc cta ttg gag ttt aag ctg ata aac aaa ctg ata gta caa ttt tta		1344
Phe Leu Leu Glu Phe Lys Leu Ile Asn Lys Leu Ile Val Gln Phe Leu		
435 440 445		
aaa acc aac tgc aag gcc att acc gat gcc gct cca aga gct tgg gga		1392
Lys Thr Asn Cys Lys Ala Ile Thr Asp Ala Ala Pro Arg Ala Trp Gly		
450 455 460		
ggt gac gtt ggt aac gat gaa acg aag acg tct gtc ttt ggt gag gcc		1440
Gly Asp Val Gly Asn Asp Glu Thr Lys Thr Ser Val Phe Gly Glu Ala		
465 470 475 480		
gaa gaa gtt acc aac tgg tag		1461
Glu Glu Val Thr Asn Trp		
485		

<210> 32
 <211> 486
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 32
 Met Ser His Thr Leu Lys Ser Lys Thr Leu Gln Glu Leu Asp Ile Glu
 1 5 10 15

Glu Ile Lys Glu Thr Asn Pro Leu Leu Lys Leu Val Gln Gly Gln Arg
 20 25 30

Ile Val Gln Val Pro Glu Leu Val Leu Glu Ser Gly Val Val Ile Asn .

35

40

45

Asn Phe Pro Ile Ala Tyr Lys Thr Trp Gly Thr Leu Asn Glu Ala Gly
50 55 60

Asp Asn Val Leu Val Ile Cys His Ala Leu Thr Gly Ser Ala Asp Val
65 70 75 80

Ala Asp Trp Trp Gly Pro Leu Leu Gly Asn Asp Leu Ala Phe Asp Pro
85 90 95

Ser Arg Phe Phe Ile Ile Cys Leu Asn Ser Met Gly Ser Pro Tyr Gly
100 105 110

Ser Phe Ser Pro Leu Thr Ile Asn Glu Glu Thr Gly Val Arg Tyr Gly
115 120 125

Pro Glu Phe Pro Leu Cys Thr Val Arg Asp Asp Val Arg Ala His Arg
130 135 140

Ile Val Leu Asp Ser Leu Gly Val Lys Ser Ile Ala Cys Val Ile Gly
145 150 155 160

Gly Ser Met Gly Gly Met Leu Ser Leu Glu Trp Ala Ala Met Tyr Gly
165 170 175

Lys Glu Tyr Val Lys Asn Met Val Ala Leu Ala Thr Ser Ala Arg His
180 185 190

Ser Ala Trp Cys Ile Ser Trp Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ser Ile Tyr
195 200 205

Ser Asp Pro Asn Tyr Leu Asp Gly Tyr Tyr Pro Val Glu Glu Gln Pro
210 215 220

Val Ala Gly Leu Ser Ala Ala Arg Met Ser Ala Leu Leu Thr Tyr Arg
225 230 235 240

Thr Arg Asn Ser Phe Glu Asn Lys Phe Ser Arg Arg Ser Pro Ser Ile
245 250 255

Ala Gln Gln Gln Lys Ala Gln Arg Glu Glu Thr Arg Lys Pro Ser Thr
260 265 270

Val Ser Glu His Ser Leu Gln Ile His Asn Asp Gly Tyr Lys Thr Lys
275 280 285

Ala Ser Thr Ala Ile Ala Gly Ile Ser Gly Gln Lys Gly Gln Ser Val
290 295 300

Val Ser Thr Ala Ser Ser Ser Asp Ser Leu Asn Ser Ser Thr Ser Met
305 310 315 320

Thr Ser Val Ser Ser Val Thr Gly Glu Val Lys Asp Ile Lys Pro Ala
325 330 335

Gln Thr Tyr Phe Ser Ala Gln Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Thr Lys
340 345 350

Phe Ile Asn Arg Phe Asp Ala Asn Cys Tyr Ile Ala Ile Thr Arg Lys
355 360 365

Leu Asp Thr His Asp Leu Ala Arg Asp Arg Val Asp Asp Ile Thr Glu

370	375	380
-----	-----	-----

Val Leu Ser Thr Ile Gln Gln Pro Ser Leu Ile Ile Gly Ile Gln Ser	390	395 400
---	-----	---------

Asp Gly Leu Phe Thr Tyr Ser Glu Gln Glu Phe Leu Ala Glu His Ile	405	410 415
---	-----	---------

Pro Lys Ser Gln Leu Glu Lys Ile Glu Ser Pro Glu Gly His Asp Ala	420	425 430
---	-----	---------

Phe Leu Leu Glu Phe Lys Leu Ile Asn Lys Leu Ile Val Gln Phe Leu	435	440 445
---	-----	---------

Lys Thr Asn Cys Lys Ala Ile Thr Asp Ala Ala Pro Arg Ala Trp Gly	450	455 460
---	-----	---------

Gly Asp Val Gly Asn Asp Glu Thr Lys Thr Ser Val Phe Gly Glu Ala	465	470 475 480
---	-----	-------------

Glu Glu Val Thr Asn Trp	485	
-------------------------	-----	--

<210> 33

<211> 1470

<212> DNA

<213> Schizosaccharomyces pombe

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1467)

<223> RSO01936

<400> 33

atg gaa tct caa tct ccg att gaa tca att gtc ttt act gac tcc tgt	1	5 10 15
Met Glu Ser Gln Ser Pro Ile Glu Ser Ile Val Phe Thr Asp Ser Cys		

cat ccg tct cag caa gaa aat aaa ttt gtt cag ctt att tca gat caa	20	25 30
His Pro Ser Gln Gln Glu Asn Lys Phe Val Gln Leu Ile Ser Asp Gln		

aaa att gca att gtt ccc aaa ttt acg ttg gag tgt ggc gac atc ctt	35	40 45
Lys Ile Ala Ile Val Pro Lys Phe Thr Leu Glu Cys Gly Asp Ile Leu		

tac gat gtt ccc gtt gcc ttc aag act tgg ggt act ttg aat aaa gaa	50	55 60
Tyr Asp Val Pro Val Ala Phe Lys Thr Trp Gly Thr Leu Asn Lys Glu		

gga aac aat tgt ctt ctt tgt cat gct tta agt ggt tct gct gat	65	70 75 80
Gly Asn Asn Cys Leu Leu Cys His Ala Leu Ser Gly Ser Ala Asp		

gct gga gat tgg tgg ggt cct tta ctc ggt cct ggt cgt gcg ttt gat	85	90 95
Ala Gly Asp Trp Trp Gly Pro Leu Leu Gly Pro Gly Arg Ala Phe Asp		

cca tca cat ttc ttt atc gta tgc ctt aat tct ctt ggt agc cca tac	100	105 110
Pro Ser His Phe Phe Ile Val Cys Leu Asn Ser Leu Gly Ser Pro Tyr		

gga agc gcc tct cct gtt aca tgg aac gct gag act cat agt gtt tat	384
Gly Ser Ala Ser Pro Val Thr Trp Asn Ala Glu Thr His Ser Val Tyr	
115 120 125	
ggg cca gaa ttt cct tta gca acc ata cgt gat gat gta aac atc cat	432
Gly Pro Glu Phe Pro Leu Ala Thr Ile Arg Asp Asp Val Asn Ile His	
130 135 140	
aaa ctt att tta caa aga ttg ggt gta aag caa att gct atg gca gta	480
Lys Leu Ile Leu Gln Arg Leu Gly Val Lys Gln Ile Ala Met Ala Val	
145 150 155 160	
ggg ggc tcc atg ggt ggt atg ctg gtt, ttg gag tgg gca ttt gat aag	528
Gly Gly Ser Met Gly Met Leu Val Leu Glu Trp Ala Phe Asp Lys	
165 170 175	
gaa ttt gtg cga tca att gtt ccc att tct acc tct ctt cgt cat tcc	576
Glu Phe Val Arg Ser Ile Val Pro Ile Ser Thr Ser Leu Arg His Ser	
180 185 190	
gcg tgg tgc att agc tgg tct gaa gcg caa cgc cag agt ata tat tct	624
Ala Trp Cys Ile Ser Trp Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ser Ile Tyr Ser	
195 200 205	
gac cct aag ttt aat gat gga tac tac ggc ata gac gat cag cct gta	672
Asp Pro Lys Phe Asn Asp Gly Tyr Tyr Gly Ile Asp Asp Gln Pro Val	
210 215 220	
agt ggc ctt gga gct gct cgt atg tct gcc ttg ttg aca tat cgc tcc	720
Ser Gly Leu Gly Ala Ala Arg Met Ser Ala Leu Leu Thr Tyr Arg Ser	
225 230 235 240	
aaa tgt tct ttc gaa cgt cgc ttt gcc cgt act gtt cct gat gcg tct	768
Lys Cys Ser Phe Glu Arg Arg Phe Ala Arg Thr Val Pro Asp Ala Ser	
245 250 255	
cgt cac ccc tat cca gat cgt tta ccc act cct ctc acg ccc agt aat	816
Arg His Pro Tyr Pro Asp Arg Leu Pro Thr Pro Leu Thr Pro Ser Asn	
260 265 270	
gca cat tgg gtc gtt cac aac gaa gga aac cgt aat cgc cgt gaa cga	864
Ala His Trp Val Val His Asn Glu Gly Asn Arg Asn Arg Arg Glu Arg	
275 280 285	
cct tgt cga tcc aat gga tca tca cct act tct gaa agt gct tta aat	912
Pro Cys Arg Ser Asn Gly Ser Ser Pro Thr Ser Glu Ser Ala Leu Asn	
290 295 300	
tcc ccc gcc tct tct gtc tcg tct tta cct tct tta ggt gcc tct cag	960
Ser Pro Ala Ser Ser Val Ser Ser Leu Pro Ser Leu Gly Ala Ser Gln	
305 310 315 320	
act aca gac agt tct tcc ctt aac cag agt tcg tta tta aga cgt cct	1008
Thr Thr Asp Ser Ser Leu Asn Gln Ser Ser Leu Leu Arg Arg Pro	
325 330 335	
gct aat act tac ttc tct gcg caa tcg tat tta cgt tac caa gcg aag	1056
Ala Asn Thr Tyr Phe Ser Ala Gln Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Ala Lys	
340 345 350	
aag ttt gta agt cgc ttt gat gct aat tgt tac att tcg att act aaa	1104
Lys Phe Val Ser Arg Phe Asp Ala Asn Cys Tyr Ile Ser Ile Thr Lys	
355 360 365	

aag ttg gac acc cat gat att act cgt gga cgc ggt tca gac tct cct	1152
Lys Leu Asp Thr His Asp Ile Thr Arg Gly Arg Gly Ser Asp Ser Pro	
370 375 380	
aag gaa gtc atg aag gat ttg tct tta ccc gta ctc gta ctc ggt att	1200
Lys Glu Val Met Lys Asp Leu Ser Leu Pro Val Leu Val Leu Gly Ile	
385 390 395 400	
gaa agc gat ggt ctt ttc aca ttt gac gaa caa gtt gaa att gcc aaa	1248
Glu Ser Asp Gly Leu Phe Thr Phe Asp Glu Gln Val Glu Ile Ala Lys	
405 410 415	
tct ttt ccc aat gct acc ttg gaa aaa att att tcg gcc gaa ggc cac	1296
Ser Phe Pro Asn Ala Thr Leu Glu Lys Ile Ile Ser Ala Glu Gly His	
420 425 430	
gac ggt ttt ttg ctt gag ttt act caa gta aac tca cat att caa aaa	1344
Asp Gly Phe Leu Leu Glu Phe Thr Gln Val Asn Ser His Ile Gln Lys	
435 440 445	
ttc caa aag gaa cat tta att gat atc atg tct caa act aat tcc ttt	1392
Phe Gln Lys Glu His Leu Ile Asp Ile Met Ser Gln Thr Asn Ser Phe	
450 455 460	
gag cga ctt gat tcc caa gtt aat gat acc aac cgc gaa agc gtt ttt	1440
Glu Arg Leu Asp Ser Gln Val Asn Asp Thr Asn Arg Glu Ser Val Phe	
465 470 475 480	
gga gaa atg gaa gac ata acc tcc tgg taa	1470
Gly Glu Met Glu Asp Ile Thr Ser Trp	
485	

<210> 34
 <211> 489
 <212> PRT
 <213> *Schizosaccharomyces pombe*

<400> 34	
Met Glu Ser Gln Ser Pro Ile Glu Ser Ile Val Phe Thr Asp Ser Cys	
1 5 10 15	
His Pro Ser Gln Gln Glu Asn Lys Phe Val Gln Leu Ile Ser Asp Gln	
20 25 30	
Lys Ile Ala Ile Val Pro Lys Phe Thr Leu Glu Cys Gly Asp Ile Leu	
35 40 45	
Tyr Asp Val Pro Val Ala Phe Lys Thr Trp Gly Thr Leu Asn Lys Glu	
50 55 60	
Gly Asn Asn Cys Leu Leu Leu Cys His Ala Leu Ser Gly Ser Ala Asp	
65 70 75 80	
Ala Gly Asp Trp Trp Gly Pro Leu Leu Gly Pro Gly Arg Ala Phe Asp	
85 90 95	
Pro Ser His Phe Phe Ile Val Cys Leu Asn Ser Leu Gly Ser Pro Tyr	
100 105 110	
Gly Ser Ala Ser Pro Val Thr Trp Asn Ala Glu Thr His Ser Val Tyr	
115 120 125	

Gly Pro Glu Phe Pro Leu Ala Thr Ile Arg Asp Asp Val Asn Ile His
130 135 140

Lys Leu Ile Leu Gln Arg Leu Gly Val Lys Gln Ile Ala Met Ala Val
145 150 155 160

Gly Gly Ser Met Gly Gly Met Leu Val Leu Glu Trp Ala Phe Asp Lys
165 170 175

Glu Phe Val Arg Ser Ile Val Pro Ile Ser Thr Ser Leu Arg His Ser
180 185 190

Ala Trp Cys Ile Ser Trp Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ser Ile Tyr Ser
195 200 205

Asp Pro Lys Phe Asn Asp Gly Tyr Tyr Gly Ile Asp Asp Gln Pro Val
210 215 220

Ser Gly Leu Gly Ala Ala Arg Met Ser Ala Leu Leu Thr Tyr Arg Ser
225 230 235 240

Lys Cys Ser Phe Glu Arg Arg Phe Ala Arg Thr Val Pro Asp Ala Ser
245 250 255

Arg His Pro Tyr Pro Asp Arg Leu Pro Thr Pro Leu Thr Pro Ser Asn
260 265 270

Ala His Trp Val Val His Asn Glu Gly Asn Arg Asn Arg Arg Glu Arg
275 280 285

Pro Cys Arg Ser Asn Gly Ser Ser Pro Thr Ser Glu Ser Ala Leu Asn
290 295 300

Ser Pro Ala Ser Ser Val Ser Ser Leu Pro Ser Leu Gly Ala Ser Gln
305 310 315 320

Thr Thr Asp Ser Ser Ser Leu Asn Gln Ser Ser Leu Leu Arg Arg Pro
325 330 335

Ala Asn Thr Tyr Phe Ser Ala Gln Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Ala Lys
340 345 350

Lys Phe Val Ser Arg Phe Asp Ala Asn Cys Tyr Ile Ser Ile Thr Lys
355 360 365

Lys Leu Asp Thr His Asp Ile Thr Arg Gly Arg Gly Ser Asp Ser Pro
370 375 380

Lys Glu Val Met Lys Asp Leu Ser Leu Pro Val Leu Val Leu Gly Ile
385 390 395 400

Glu Ser Asp Gly Leu Phe Thr Phe Asp Glu Gln Val Glu Ile Ala Lys
405 410 415

Ser Phe Pro Asn Ala Thr Leu Glu Lys Ile Ile Ser Ala Glu Gly His
420 425 430

Asp Gly Phe Leu Leu Glu Phe Thr Gln Val Asn Ser His Ile Gln Lys
435 440 445

Phe Gln Lys Glu His Leu Ile Asp Ile Met Ser Gln Thr Asn Ser Phe
450 455 460

Glu Arg Leu Asp Ser Gln Val Asn Asp Thr Asn Arg Glu Ser Val Phe
 465 470 475 480

Gly Glu Met Glu Asp Ile Thr Ser Trp
 485

<210> 35
 <211> 1113
 <212> DNA
 <213> Xylella almond

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1110)
 <223> RXFX01562

<400> 35
 atg acc gaa ttt atc cct ccg ggc agc cta ttc cat gcg ctc tcc tct 48
 Met Thr Glu Phe Ile Pro Pro Gly Ser Leu Phe His Ala Leu Ser Ser
 1 5 10 15
 cca ttt gcg atg aag cgt ggc gga caa ctc cac cac gcc cgc atc gct 96
 Pro Phe Ala Met Lys Arg Gly Gly Gln Leu His His Ala Arg Ile Ala
 20 25 30
 tac gaa aca tgg ggc cgc ctc aat gcc agc gcc acc aat gcc att ctg 144
 Tyr Glu Thr Trp Gly Arg Leu Asn Ala Ser Ala Thr Asn Ala Ile Leu
 35 40 45
 atc atg cct ggc tta tca ccc aat gca cat gcc gca cac cat gac agc 192
 Ile Met Pro Gly Leu Ser Pro Asn Ala His Ala Ala His His Asp Ser
 50 55 60
 aat gct gag cca ggc tgg tgg gag tca atg cta ggt cca ggc aaa ccc 240
 Asn Ala Glu Pro Gly Trp Trp Glu Ser Met Leu Gly Pro Gly Lys Pro
 65 70 75 80
 atc gac aca gac cgt tgg ttc gtg atc tgt gtc aac tca ctt ggt agc 288
 Ile Asp Thr Asp Arg Trp Phe Val Ile Cys Val Asn Ser Leu Gly Ser
 85 90 95
 tgc aaa gga tcg act ggc cct gca tcg tac aac ccc atc acg cag gcc 336
 Cys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Ile Thr Gln Ala
 100 105 110
 atg tat cgt ttg gac ttt cca gca ctg tca atc gaa gac ggg gcc aac 384
 Met Tyr Arg Leu Asp Phe Pro Ala Leu Ser Ile Glu Asp Gly Ala Asn
 115 120 125
 tcc gca att gaa gtg gta cat gca ctg ggc atc aag caa ctt gcc agc 432
 Ser Ala Ile Glu Val Val His Ala Leu Gly Ile Lys Gln Leu Ala Ser
 130 135 140
 ctg atc ggc aat tca atg ggc ggc atg acg gca ctg gcc atc ctg ctg 480
 Leu Ile Gly Asn Ser Met Gly Gly Met Thr Ala Leu Ala Ile Leu Leu
 145 150 155 160
 tta cat cca gat ata gcc cgc agc cac atc aac atc tca ggc agc gcg 528
 Leu His Pro Asp Ile Ala Arg Ser His Ile Asn Ile Ser Gly Ser Ala
 165 170 175

cag gca tta ccg ttt tcc atc gcc att cgc tcg cta caa cgc gag gcg 576
 Gln Ala Leu Pro Phe Ser Ile Ala Ile Arg Ser Leu Gln Arg Glu Ala
 180 185 190

atc cgc ctg gac ccc cat tgg agg cag gga gac tac gac gac acc cac 624
 Ile Arg Leu Asp Pro His Trp Arg Gln Gly Asp Tyr Asp Asp Thr His
 195 200 205

tac ccg gaa tcg ggg cta cgc atc gca cgc aaa ctt ggg gtg atc acc 672
 Tyr Pro Glu Ser Gly Leu Arg Ile Ala Arg Lys Leu Gly Val Ile Thr
 210 215 220

tac cgc tcc gcg ctg gaa tgg gac ggg cgt ttt ggc cgg gta cgc ttg 720
 Tyr Arg Ser Ala Leu Glu Trp Asp Gly Arg Phe Gly Arg Val Arg Leu
 225 230 235 240

gat tcg gac caa acc aac gac aca cca ttc gga ctg gaa ttc caa att 768
 Asp Ser Asp Gln Thr Asn Asp Thr Pro Phe Gly Leu Glu Phe Gln Ile
 245 250 255

gaa aac tac ttg gaa agc cat gca cac cgc ttc gtg cac acc ttc gac 816
 Glu Asn Tyr Leu Glu Ser His Ala His Arg Phe Val His Thr Phe Asp
 260 265 270

cca aac tgc tac ctg tac ctg agc cgc tcc atg gac tgg ttc gac gtg 864
 Pro Asn Cys Tyr Leu Tyr Leu Ser Arg Ser Met Asp Trp Phe Asp Val
 275 280 285

gcc gag tac gcc aat gga gac att ctt gcc ggg ctg gcc agg atc cga 912
 Ala Glu Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Leu Ala Gly Leu Ala Arg Ile Arg
 290 295 300

atc caa cgc gca ctc gcc atc ggt agc cat acc gac atc ctc ttt cca 960
 Ile Gln Arg Ala Leu Ala Ile Gly Ser His Thr Asp Ile Leu Phe Pro
 305 310 315 320

ata caa cag caa caa caa att gcc gaa ggg cta cgc cgt ggc ggt aca 1008
 Ile Gln Gln Gln Gln Ile Ala Glu Gly Leu Arg Arg Gly Thr
 325 330 335

cac gcc acc ttc ctg ggc ctt gac tca ccg cag ggg cat gat gcg ttc 1056
 His Ala Thr Phe Leu Gly Leu Asp Ser Pro Gln Gly His Asp Ala Phe
 340 345 350

ctt gtg gat atc gca aga ttt ggc cct cca gtg aag gaa ttt ctg gac 1104
 Leu Val Asp Ile Ala Arg Phe Gly Pro Pro Val Lys Glu Phe Leu Asp
 355 360 365

gaa ctg tga 1113
 Glu Leu
 370

<210> 36
 <211> 370
 <212> PRT
 <213> Xylella almond

<400> 36
 Met Thr Glu Phe Ile Pro Pro Gly Ser Leu Phe His Ala Leu Ser Ser
 1 5 10 15

Pro Phe Ala Met Lys Arg Gly Gly Gln Leu His His Ala Arg Ile Ala

20

25

30

Tyr Glu Thr Trp Gly Arg Leu Asn Ala Ser Ala Thr Asn Ala Ile Leu
 35 40 45

Ile Met Pro Gly Leu Ser Pro Asn Ala His Ala Ala His His Asp Ser
 50 55 60

Asn Ala Glu Pro Gly Trp Trp Glu Ser Met Leu Gly Pro Gly Lys Pro
 65 70 75 80

Ile Asp Thr Asp Arg Trp Phe Val Ile Cys Val Asn Ser Leu Gly Ser
 85 90 95

Cys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Ile Thr Gln Ala
 100 105 110

Met Tyr Arg Leu Asp Phe Pro Ala Leu Ser Ile Glu Asp Gly Ala Asn
 115 120 125

Ser Ala Ile Glu Val Val His Ala Leu Gly Ile Lys Gln Leu Ala Ser
 130 135 140

Leu Ile Gly Asn Ser Met Gly Gly Met Thr Ala Leu Ala Ile Leu Leu
 145 150 155 160

Leu His Pro Asp Ile Ala Arg Ser His Ile Asn Ile Ser Gly Ser Ala
 165 170 175

Gln Ala Leu Pro Phe Ser Ile Ala Ile Arg Ser Leu Gln Arg Glu Ala
 180 185 190

Ile Arg Leu Asp Pro His Trp Arg Gln Gly Asp Tyr Asp Asp Thr His
 195 200 205

Tyr Pro Glu Ser Gly Leu Arg Ile Ala Arg Lys Leu Gly Val Ile Thr
 210 215 220

Tyr Arg Ser Ala Leu Glu Trp Asp Gly Arg Phe Gly Arg Val Arg Leu
 225 230 235 240

Asp Ser Asp Gln Thr Asn Asp Thr Pro Phe Gly Leu Glu Phe Gln Ile
 245 250 255

Glu Asn Tyr Leu Glu Ser His Ala His Arg Phe Val His Thr Phe Asp
 260 265 270

Pro Asn Cys Tyr Leu Tyr Leu Ser Arg Ser Met Asp Trp Phe Asp Val
 275 280 285

Ala Glu Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Leu Ala Gly Leu Ala Arg Ile Arg
 290 295 300

Ile Gln Arg Ala Leu Ala Ile Gly Ser His Thr Asp Ile Leu Phe Pro
 305 310 315 320

Ile Gln Gln Gln Gln Ile Ala Glu Gly Leu Arg Arg Gly Thr
 325 330 335

His Ala Thr Phe Leu Gly Leu Asp Ser Pro Gln Gly His Asp Ala Phe
 340 345 350

Leu Val Asp Ile Ala Arg Phe Gly Pro Pro Val Lys Glu Phe Leu Asp

355

360

365

Glu Leu
370

<210> 37
<211> 1113
<212> DNA
<213> Xylella oleander

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(1110)
<223> RXYFY01729

<400> 37
atg acc gaa ttt atc cct ccg ggc agc cta ttc cat gcg ctc tcc tct 48
Met Thr Glu Phe Ile Pro Pro Gly Ser Leu Phe His Ala Leu Ser Ser
1 5 10 15

cca ttt gcg atg aag cgt ggc gga caa ctc cac cac gcc cgc atc gct 96
Pro Phe Ala Met Lys Arg Gly Gly Gln Leu His His Ala Arg Ile Ala
20 25 30

tac gaa aca tgg ggc cgc ctc aat gcc agc gcc acc aat gcc att ctg 144
Tyr Glu Thr Trp Gly Arg Leu Asn Ala Ser Ala Thr Asn Ala Ile Leu
35 40 45

atc atg cct ggc tta tca ccc aat gca cat gcc gca cac cat gac agc 192
Ile Met Pro Gly Leu Ser Pro Asn Ala His Ala Ala His His Asp Ser
50 55 60

aat gct gag cca ggc tgg tgg gag tca atg cta ggt cca ggc aaa ccc 240
Asn Ala Glu Pro Gly Trp Trp Glu Ser Met Leu Gly Pro Gly Lys Pro
65 70 75 80

atc gac aca gac cgt tgg ttc gtg atc tgt gtc aac tca ctt ggt agc 288
Ile Asp Thr Asp Arg Trp Phe Val Ile Cys Val Asn Ser Leu Gly Ser
85 90 95

tgc aaa gga tcg act ggc cct gca tcg tac aac ccc atc acg cag gcc 336
Cys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Ile Thr Gln Ala
100 105 110

atg tat cgt ttg gac ttt cca gca ctg tca atc gaa gac ggg gcc aac 384
Met Tyr Arg Leu Asp Phe Pro Ala Leu Ser Ile Glu Asp Gly Ala Asn
115 120 125

gcc gca att gaa gtg gta cat gca ctg ggc atc aag caa ctt gcc agc 432
Ala Ala Ile Glu Val Val His Ala Leu Gly Ile Lys Gln Leu Ala Ser
130 135 140

ctg atc ggc aat tca atg ggg ggc atg acg aca ctg gcc atc ctg ctg 480
Leu Ile Gly Asn Ser Met Gly Gly Met Thr Thr Leu Ala Ile Leu Leu
145 150 155 160

tta cat cca gat att gcc cgc agc cac atc aac atc tca ggc agc gcg 528
Leu His Pro Asp Ile Ala Arg Ser His Ile Asn Ile Ser Gly Ser Ala
165 170 175

cag gca tta ccg ttt tcc atc gcc att cgc tcg cta caa cgc gag gcg 576
Gln Ala Leu Pro Phe Ser Ile Ala Ile Arg Ser Leu Gln Arg Glu Ala

180

185

190

atc cgc ctg gac ccc cat tgg aag cag gga gac tac gac gac acc cac 624
 Ile Arg Leu Asp Pro His Trp Lys Gln Gly Asp Tyr Asp Asp Thr His
 195 200 205

tac ccg gaa tcg ggg cta cgc atc gca cgc aaa ctc ggg gtg atc acc 672
 Tyr Pro Glu Ser Gly Leu Arg Ile Ala Arg Lys Leu Gly Val Ile Thr
 210 215 220

tac cgc tcc gcg ctg gaa tgg gac ggg cgt ttt ggc cgg gta cgc ttg 720
 Tyr Arg Ser Ala Leu Glu Trp Asp Gly Arg Phe Gly Arg Val Arg Leu
 225 230 235 240

gat tcg gac caa acc aac gac aca cca ttc gga ctg gaa ttc caa att 768
 Asp Ser Asp Gln Thr Asn Asp Thr Pro Phe Gly Leu Glu Phe Gln Ile
 245 250 255

gaa aac tac ttg gaa agc cat gca cac cgc ttc gtg cac acc ttc gac 816
 Glu Asn Tyr Leu Glu Ser His Ala His Arg Phe Val His Thr Phe Asp
 260 265 270

cca aac tgc tac ctg tac ctg agc cgc tcc atg gac tgg ttc gac gtg 864
 Pro Asn Cys Tyr Leu Tyr Leu Ser Arg Ser Met Asp Trp Phe Asp Val
 275 280 285

gcc gag tac gcc aat gga gac att ctt gcc ggg ctg gcc agg atc cga 912
 Ala Glu Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Leu Ala Gly Leu Ala Arg Ile Arg
 290 295 300

atc caa cgc gca ctt gcc atc ggt agc cat acc gac atc ctc ttt cca 960
 Ile Gln Arg Ala Leu Ala Ile Gly Ser His Thr Asp Ile Leu Phe Pro
 305 310 315 320

ata caa cag caa caa caa att gcc gaa ggg cta cgc cgt ggc ggt aca 1008
 Ile Gln Gln Gln Gln Ile Ala Glu Gly Leu Arg Arg Gly Thr
 325 330 335

cac gcc acc ttc ctg ggc ctt gac tca ccg cag gga cat gat gcg ttc 1056
 His Ala Thr Phe Leu Gly Leu Asp Ser Pro Gln Gly His Asp Ala Phe
 340 345 350

ctt gtg gat atc gca gga ttt ggc cct cca gtg aag gaa ttt ctg ggc 1104
 Leu Val Asp Ile Ala Gly Phe Gly Pro Pro Val Lys Glu Phe Leu Gly
 355 360 365

gaa ctg tga 1113
 Glu Leu
 370

<210> 38
 <211> 370
 <212> PRT
 <213> Xylella oleander

<400> 38
 Met Thr Glu Phe Ile Pro Pro Gly Ser Leu Phe His Ala Leu Ser Ser
 1 5 10 15

Pro Phe Ala Met Lys Arg Gly Gly Gln Leu His His Ala Arg Ile Ala
 20 25 30

Tyr Glu Thr Trp Gly Arg Leu Asn Ala Ser Ala Thr Asn Ala Ile Leu
35 40 45

Ile Met Pro Gly Leu Ser Pro Asn Ala His Ala Ala His His Asp Ser
50 55 60

Asn Ala Glu Pro Gly Trp Trp Glu Ser Met Leu Gly Pro Gly Lys Pro
65 70 75 80

Ile Asp Thr Asp Arg Trp Phe Val Ile Cys Val Asn Ser Leu Gly Ser
85 90 95

Cys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Ile Thr Gln Ala
100 105 110

Met Tyr Arg Leu Asp Phe Pro Ala Leu Ser Ile Glu Asp Gly Ala Asn
115 120 125

Ala Ala Ile Glu Val Val His Ala Leu Gly Ile Lys Gln Leu Ala Ser
130 135 140

Leu Ile Gly Asn Ser Met Gly Gly Met Thr Thr Leu Ala Ile Leu Leu
145 150 155 160

Leu His Pro Asp Ile Ala Arg Ser His Ile Asn Ile Ser Gly Ser Ala
165 170 175

Gln Ala Leu Pro Phe Ser Ile Ala Ile Arg Ser Leu Gln Arg Glu Ala
180 185 190

Ile Arg Leu Asp Pro His Trp Lys Gln Gly Asp Tyr Asp Asp Thr His
195 200 205

Tyr Pro Glu Ser Gly Leu Arg Ile Ala Arg Lys Leu Gly Val Ile Thr
210 215 220

Tyr Arg Ser Ala Leu Glu Trp Asp Gly Arg Phe Gly Arg Val Arg Leu
225 230 235 240

Asp Ser Asp Gln Thr Asn Asp Thr Pro Phe Gly Leu Glu Phe Gln Ile
245 250 255

Glu Asn Tyr Leu Glu Ser His Ala His Arg Phe Val His Thr Phe Asp
260 265 270

Pro Asn Cys Tyr Leu Tyr Leu Ser Arg Ser Met Asp Trp Phe Asp Val
275 280 285

Ala Glu Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Leu Ala Gly Leu Ala Arg Ile Arg
290 295 300

Ile Gln Arg Ala Leu Ala Ile Gly Ser His Thr Asp Ile Leu Phe Pro
305 310 315 320

Ile Gln Gln Gln Gln Ile Ala Glu Gly Leu Arg Arg Gly Gly Thr
325 330 335

His Ala Thr Phe Leu Gly Leu Asp Ser Pro Gln Gly His Asp Ala Phe
340 345 350

Leu Val Asp Ile Ala Gly Phe Gly Pro Pro Val Lys Glu Phe Leu Gly
355 360 365

Glu Leu
370

<210> 39
<211> 1578
<212> DNA
<213> *Emericella nidulans*

```
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1575)
<223> REN00010
```

<400> 39
 atg agt ccg ctg aac ggc gtc gct cgt tcc ttt ccg cgg ccc ttc cag 48
 Met Ser Pro Leu Asn Gly Val Ala Arg Ser Phe Pro Arg Pro Phe Gln
 1 5 10 15

 gcc gtg acc agg cggtt cct cga gtt gtc cag ccg gcc atc gcc tgt 96
 Ala Val Thr Arg Arg Pro Phe Arg Val Val Gln Pro Ala Ile Ala Cys
 20 25 30

 ccg tcc aac agc cggtt tcg ttt aac cat tct cga tca tta cga tca acg 144
 Pro Ser Asn Ser Arg Ser Phe Asn His Ser Arg Ser Leu Arg Ser Thr
 35 40 45

 ggg tct cag tcc ccc gct cca tcc cca cgc gac tcc tcg aat ccc gcg 192
 Gly Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Pro Arg Asp Ser Ser Asn Pro Ala
 50 55 60

 ctg tcc ttc cct tgc ctc gac gcc cag gag gcc aag tcc gct ctt ctt 240
 Leu Ser Phe Pro Cys Leu Asp Ala Gln Glu Ala Lys Ser Ala Leu Leu
 65 70 75 80

 tcc gcg cga tct ctt ggt tca ggc cct gaa ccc tcc tat acc gcc ggc 288
 Ser Ala Arg Ser Leu Gly Ser Gly Pro Glu Pro Ser Tyr Thr Ala Gly
 85 90 95

 cac cac gaa cga ttc cat tcc gac gaa ccg ctg ctc ctt gat tgg ggc 336
 His His Glu Arg Phe His Ser Asp Glu Pro Leu Leu Asp Trp Gly
 100 105 110

 ggt ttg ctt cca gaa ttt gat atc gca tat gag aca tgg ggc cag ctg 384
 Gly Leu Leu Pro Glu Phe Asp Ile Ala Tyr Glu Thr Trp Gly Gln Leu
 115 120 125

 aac gag aag aag gat aat gtc att ctg ctg cat acc ggt ctg tct gca 432
 Asn Glu Lys Lys Asp Asn Val Ile Leu Leu His Thr Gly Leu Ser Ala
 130 135 140

 tct agc cat gcg cac agc acc gaa gcg aac ccg aag ccc ggc tgg tgg 480
 Ser Ser His Ala His Ser Thr Glu Ala Asn Pro Lys Pro Gly Trp Trp
 145 150 155 160

 gag aaa ttc ata ggt cct ggg aag acg cta gat acg gac aag tac ttt 528
 Glu Lys Phe Ile Gly Pro Gly Lys Thr Leu Asp Thr Asp Lys Tyr Phe
 165 170 175

 gtg atc tgc acc aat gtc ctt gga ggg tgc tac ggt agc acg ggg ccc 576
 Val Ile Cys Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Tyr Gly Ser Thr Gly Pro
 180 185 190

tcg acg gtg gac ccg tcg gat ggg aag aag tat gct acg cgg ttt ccc	624
Ser Thr Val Asp Pro Ser Asp Gly Lys Lys Tyr Ala Thr Arg Phe Pro	
195 200 205	
atc ctg aca att gaa gat atg gtg cga gcg cag ttc cgc ctt ttg gac	672
Ile Leu Thr Ile Glu Asp Met Val Arg Ala Gln Phe Arg Leu Leu Asp	
210 215 220	
cat ctt ggg gtt cgg aaa ctc tac gcg tcc gtc ggc tcc agc atg ggt	720
His Leu Gly Val Arg Lys Leu Tyr Ala Ser Val Gly Ser Ser Met Gly	
225 230 235 240	
ggt atg cag agt ctt gca gcc ggt gtt ctg ttc cca gag cga gtg ggc	768
Gly Met Gln Ser Leu Ala Ala Gly Val Leu Phe Pro Glu Arg Val Gly	
245 250 255	
aag att gtg tcg att agc ggt tgg gct cga agc cat ccg tac agc att	816
Lys Ile Val Ser Ile Ser Gly Cys Ala Arg Ser His Pro Tyr Ser Ile	
260 265 270	
gct atg cgc cat acc cag cgg cag gtg ttg atg atg gat cca aat tgg	864
Ala Met Arg His Thr Gln Arg Gln Val Leu Met Met Asp Pro Asn Trp	
275 280 285	
gct cga ggt ttc tac tac gat tcg atc cca cct cat tca ggc atg aag	912
Ala Arg Gly Phe Tyr Tyr Asp Ser Ile Pro Pro His Ser Gly Met Lys	
290 295 300	
ctc gct cgc gag att gcc acc gtc acg tac cgc agc gga cca gaa tgg	960
Leu Ala Arg Glu Ile Ala Thr Val Thr Tyr Arg Ser Gly Pro Glu Trp	
305 310 315 320	
gag aaa cgc ttt ggt cgg aaa cgg gct gat ccg agc aaa cag cct gcg	1008
Glu Lys Arg Phe Gly Arg Lys Arg Ala Asp Pro Ser Lys Gln Pro Ala	
325 330 335	
ctt tgc ccc gac ttt ctc atc gag acg tat ctc gac cac gcc ggt gaa	1056
Leu Cys Pro Asp Phe Leu Ile Glu Thr Tyr Leu Asp His Ala Gly Glu	
340 345 350	
aaa ttc tgc ttg gaa tac gat gcc aac agc ctg ctc tac atc tcc aag	1104
Lys Phe Cys Leu Glu Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Leu Tyr Ile Ser Lys	
355 360 365	
gcg atg gat ctg ttt gac cta ggg ttg act cag caa ctc gcg acg aag	1152
Ala Met Asp Leu Phe Asp Leu Gly Leu Thr Gln Gln Leu Ala Thr Lys	
370 375 380	
aag cag agg gcg gag gcc cag gcg aag att agc agc gga aca aac act	1200
Lys Gln Arg Ala Glu Ala Gln Ala Lys Ile Ser Ser Gly Thr Asn Thr	
385 390 395 400	
gtc aat gat gcg tgc agc ctt aca ctt cct gaa cag cca tac cag	1248
Val Asn Asp Ala Ser Cys Ser Leu Thr Leu Pro Glu Gln Pro Tyr Gln	
405 410 415	
gag cag cca tct gcc tcg aca tcc gcc gag cag tct gct tcc gct tca	1296
Glu Gln Pro Ser Ala Ser Thr Ser Ala Glu Gln Ser Ala Ser Ala Ser	
420 425 430	
gag acc ggg tcg gct ccg aac gat ctt gtt gcc ggg ctt gcg ccg ctg	1344
Glu Thr Gly Ser Ala Pro Asn Asp Leu Val Ala Gly Leu Ala Pro Leu	
435 440 445	

aaa gac cat cag gtg ctg gta atc gga gtc gca agc gac att ctc ttc 1392
 Lys Asp His Gln Val Leu Val Ile Gly Val Ala Ser Asp Ile Leu Phe
 450 455 460

ccg gcg tgg caa cag cgc gag atc gcg gag act ctg att caa gca ggg 1440
 Pro Ala Trp Gln Gln Arg Glu Ile Ala Glu Thr Leu Ile Gln Ala Gly
 465 470 475 480

aac aag acc gtg gag cat att gag ctg ggc aac gac gtg tct ctc ttt 1488
 Asn Lys Thr Val Glu His Ile Glu Leu Gly Asn Asp Val Ser Leu Phe
 485 490 495

ggc cat gac aca ttc ctc ctt gat gtc aga acg tcg gag ggc cag ttc 1536
 Gly His Asp Thr Phe Leu Leu Asp Val Arg Thr Ser Glu Ala Gln Phe
 500 505 510

gca agt tcc gta cta gtc ggc tcg cac ata att gta caa tag 1578
 Ala Ser Ser Val Leu Val Gly Ser His Ile Ile Val Gln
 515 520 525

<210> 40
 <211> 525
 <212> PRT
 <213> *Emericella nidulans*

<400> 40
 Met Ser Pro Leu Asn Gly Val Ala Arg Ser Phe Pro Arg Pro Phe Gln
 1 5 10 15

Ala Val Thr Arg Arg Pro Phe Arg Val Val Gln Pro Ala Ile Ala Cys
 20 25 30

Pro Ser Asn Ser Arg Ser Phe Asn His Ser Arg Ser Leu Arg Ser Thr
 35 40 45

Gly Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Pro Arg Asp Ser Ser Asn Pro Ala
 50 55 60

Leu Ser Phe Pro Cys Leu Asp Ala Gln Glu Ala Lys Ser Ala Leu Leu
 65 70 75 80

Ser Ala Arg Ser Leu Gly Ser Gly Pro Glu Pro Ser Tyr Thr Ala Gly
 85 90 95

His His Glu Arg Phe His Ser Asp Glu Pro Leu Leu Leu Asp Trp Gly
 100 105 110

Gly Leu Leu Pro Glu Phe Asp Ile Ala Tyr Glu Thr Trp Gly Gln Leu
 115 120 125

Asn Glu Lys Lys Asp Asn Val Ile Leu Leu His Thr Gly Leu Ser Ala
 130 135 140

Ser Ser His Ala His Ser Thr Glu Ala Asn Pro Lys Pro Gly Trp Trp
 145 150 155 160

Glu Lys Phe Ile Gly Pro Gly Lys Thr Leu Asp Thr Asp Lys Tyr Phe
 165 170 175

Val Ile Cys Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Tyr Gly Ser Thr Gly Pro
 180 185 190

Ser Thr Val Asp Pro Ser Asp Gly Lys Lys Tyr Ala Thr Arg Phe Pro
195 200 205

Ile Leu Thr Ile Glu Asp Met Val Arg Ala Gln Phe Arg Leu Leu Asp
210 215 220

His Leu Gly Val Arg Lys Leu Tyr Ala Ser Val Gly Ser Ser Met Gly
225 230 235 240

Gly Met Gln Ser Leu Ala Ala Gly Val Leu Phe Pro Glu Arg Val Gly
245 250 255

Lys Ile Val Ser Ile Ser Gly Cys Ala Arg Ser His Pro Tyr Ser Ile
260 265 270

Ala Met Arg His Thr Gln Arg Gln Val Leu Met Met Asp Pro Asn Trp
275 280 285

Ala Arg Gly Phe Tyr Tyr Asp Ser Ile Pro Pro His Ser Gly Met Lys
290 295 300

Leu Ala Arg Glu Ile Ala Thr Val Thr Tyr Arg Ser Gly Pro Glu Trp
305 310 315 320

Glu Lys Arg Phe Gly Arg Lys Arg Ala Asp Pro Ser Lys Gln Pro Ala
325 330 335

Leu Cys Pro Asp Phe Leu Ile Glu Thr Tyr Leu Asp His Ala Gly Glu
340 345 350

Lys Phe Cys Leu Glu Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Leu Tyr Ile Ser Lys
355 360 365

Ala Met Asp Leu Phe Asp Leu Gly Leu Thr Gln Gln Leu Ala Thr Lys
370 375 380

Lys Gln Arg Ala Glu Ala Gln Ala Lys Ile Ser Ser Gly Thr Asn Thr
385 390 395 400

Val Asn Asp Ala Ser Cys Ser Leu Thr Leu Pro Glu Gln Pro Tyr Gln
405 410 415

Glu Gln Pro Ser Ala Ser Thr Ser Ala Glu Gln Ser Ala Ser Ala Ser
420 425 430

Glu Thr Gly Ser Ala Pro Asn Asp Leu Val Ala Gly Leu Ala Pro Leu
435 440 445

Lys Asp His Gln Val Leu Val Ile Gly Val Ala Ser Asp Ile Leu Phe
450 455 460

Pro Ala Trp Gln Gln Arg Glu Ile Ala Glu Thr Leu Ile Gln Ala Gly
465 470 475 480

Asn Lys Thr Val Glu His Ile Glu Leu Gly Asn Asp Val Ser Leu Phe
485 490 495

Gly His Asp Thr Phe Leu Leu Asp Val Arg Thr Ser Glu Ala Gln Phe
500 505 510

Ala Ser Ser Val Leu Val Gly Ser His Ile Ile Val Gln
515 520 525

<210> 41
<211> 1170
<212> DNA
<213> Mesorhizobium loti

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1167)
<223> NP_104621

<400> 41
atg gcc gct ctg cgc gca gga aag acc aac aac gag gcc gac cag ccg 48
Met Ala Ala Leu Arg Ala Gly Lys Thr Asn Asn Glu Ala Asp Gln Pro
1 5 10 15
tcg agc ccg gtg ttg cgc ttc ggg gcg gac aag ccg ctc aag ctc gac 96
Ser Ser Pro Val Leu Arg Phe Gly Ala Asp Lys Pro Leu Lys Leu Asp
20 25 30
gcc ggc acg ctt ttg tcg ccg ttc cag atc gcc tat cag acc tac ggc 144
Ala Gly Thr Leu Leu Ser Pro Phe Gln Ile Ala Tyr Gln Thr Tyr Gly
35 40 45
acg ctg aac gat gcc cgc tcc aat gcc atc ctc gtc tgc cat gcg ctg 192
Thr Leu Asn Asp Ala Arg Ser Asn Ala Ile Leu Val Cys His Ala Leu
50 55 60
acc ggc gac cag cat gtc gcc aac acc aat ccg gtg acc ggc aag ccg 240
Thr Gly Asp Gln His Val Ala Asn Thr Asn Pro Val Thr Gly Lys Pro
65 70 75 80
gga tgg tgg gaa gtg ctg atc ggc ccc ggc agg atc atc gac acc aac 288
Gly Trp Trp Glu Val Leu Ile Gly Pro Gly Arg Ile Ile Asp Thr Asn
85 90 95
cgt ttc ttc gtc atc tgc tcc aac gtc atc ggc ggt tgt ctg ggc tcc 336
Arg Phe Phe Val Ile Cys Ser Asn Val Ile Gly Gly Cys Leu Gly Ser
100 105 110
acc ggc ccg gcc tcg acc aac ccc gcc acc ggc aag ccc tac ggg ctc 384
Thr Gly Pro Ala Ser Thr Asn Pro Ala Thr Gly Lys Pro Tyr Gly Leu
115 120 125
gac ctg ccg gtc atc acc atc cgc gat atg gtg cgc gcg cag cag atg 432
Asp Leu Pro Val Ile Thr Ile Arg Asp Met Val Arg Ala Gln Gln Met
130 135 140
ctg atc gat cat ttc ggc atc gag aaa ctg ttc tgc gtg ctc ggc ggc 480
Leu Ile Asp His Phe Gly Ile Glu Lys Leu Phe Cys Val Leu Gly Gly
145 150 155 160
tcg atg ggc gga atg cag gtg ctg gaa tgg gcg tcg agc tac ccc gag 528
Ser Met Gly Gly Met Gln Val Leu Glu Trp Ala Ser Ser Tyr Pro Glu
165 170 175
cgc gtc ttt tcg gca ctg ccg atc gcc acc ggc gcg cgc cat tcc tcg 576
Arg Val Phe Ser Ala Leu Pro Ile Ala Thr Gly Ala Arg His Ser Ser
180 185 190
cag aac atc gcc ttc cac gag gtc ggc cgg cag gct gtc atg gcc gat 624
Gln Asn Ile Ala Phe His Glu Val Gly Arg Gln Ala Val Met Ala Asp

195

200

205

ccg gac tgg cac ggc ggc aaa tat ttc gaa aac ggc aaa cgc ccg gaa 672
 Pro Asp Trp His Gly Gly Lys Tyr Phe Glu Asn Gly Lys Arg Pro Glu
 210 215 220

aag ggc ctg gcg gta gcg cgc atg gcc gcc cac ata acc tat ctg tcg 720
 Lys Gly Leu Ala Val Ala Arg Met Ala Ala His Ile Thr Tyr Leu Ser
 225 230 235 240

gaa gcc gcc ctg cac cgg aaa ttc ggc cgc aat ctg cag gat cgc gag 768
 Glu Ala Ala Leu His Arg Lys Phe Gly Arg Asn Leu Gln Asp Arg Glu
 245 250 255

gcg ctg acc ttc ggc ttc gac gcc gac ttc cag atc gaa agc tat ctg 816
 Ala Leu Thr Phe Gly Phe Asp Ala Asp Phe Gln Ile Glu Ser Tyr Leu
 260 265 270

cgc cac caa ggc atg acc ttc gtc gac cgc ttc gac gcc aat tcc tat 864
 Arg His Gln Gly Met Thr Phe Val Asp Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr
 275 280 285

ctc tac atg acg cgg tcg atg gac tat ttc gac ctc gcc gcc gat cat 912
 Leu Tyr Met Thr Arg Ser Met Asp Tyr Phe Asp Leu Ala Ala Asp His
 290 295 300

ggc ggg cgg ctg gcg gat gcc ttt gcc ggc acc aaa acc cgc ttc tgc 960
 Gly Gly Arg Leu Ala Asp Ala Phe Ala Gly Thr Lys Thr Arg Phe Cys
 305 310 315 320

ctg gtg tcc ttc acc tcg gat tgg ttg ttt ccg acc gaa gag agc cgc 1008
 Leu Val Ser Phe Thr Ser Asp Trp Leu Phe Pro Thr Glu Glu Ser Arg
 325 330 335

tcg atc gtg cac gcg ctc aac gcc gcc ggc tcc gtg tcc ttc gtc 1056
 Ser Ile Val His Ala Leu Asn Ala Ala Gly Ala Ser Val Ser Phe Val
 340 345 350

gaa atc gag acc gac cgc ggc cac gat gcc ttc ctg ctc gac gag ccg 1104
 Glu Ile Glu Thr Asp Arg Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Glu Pro
 355 360 365

gaa ctg ttc gcc gcc atc aac ggc ttc atc ggc tcc gcg gcg cgg gcg 1152
 Glu Leu Phe Ala Ala Ile Asn Gly Phe Ile Gly Ser Ala Ala Arg Ala
 370 375 380

aga ggg cta agc gca tga 1170
 Arg Gly Leu Ser Ala
 385

<210> 42
 <211> 389
 <212> PRT
 <213> Mesorhizobium loti

<400> 42
 Met Ala Ala Leu Arg Ala Gly Lys Thr Asn Asn Glu Ala Asp Gln Pro
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Val Leu Arg Phe Gly Ala Asp Lys Pro Leu Lys Leu Asp
 20 25 30

Ala Gly Thr Leu Leu Ser Pro Phe Gln Ile Ala Tyr Gln Thr Tyr Gly
35 40 45

Thr Leu Asn Asp Ala Arg Ser Asn Ala Ile Leu Val Cys His Ala Leu
50 55 60

Thr Gly Asp Gln His Val Ala Asn Thr Asn Pro Val Thr Gly Lys Pro
65 70 75 80

Gly Trp Trp Glu Val Leu Ile Gly Pro Gly Arg Ile Ile Asp Thr Asn
85 90 95

Arg Phe Phe Val Ile Cys Ser Asn Val Ile Gly Gly Cys Leu Gly Ser
100 105 110

Thr Gly Pro Ala Ser Thr Asn Pro Ala Thr Gly Lys Pro Tyr Gly Leu
115 120 125

Asp Leu Pro Val Ile Thr Ile Arg Asp Met Val Arg Ala Gln Gln Met
130 135 140

Leu Ile Asp His Phe Gly Ile Glu Lys Leu Phe Cys Val Leu Gly Gly
145 150 155 160

Ser Met Gly Gly Met Gln Val Leu Glu Trp Ala Ser Ser Tyr Pro Glu
165 170 175

Arg Val Phe Ser Ala Leu Pro Ile Ala Thr Gly Ala Arg His Ser Ser
180 185 190

Gln Asn Ile Ala Phe His Glu Val Gly Arg Gln Ala Val Met Ala Asp
195 200 205

Pro Asp Trp His Gly Gly Lys Tyr Phe Glu Asn Gly Lys Arg Pro Glu
210 215 220

Lys Gly Leu Ala Val Ala Arg Met Ala Ala His Ile Thr Tyr Leu Ser
225 230 235 240

Glu Ala Ala Leu His Arg Lys Phe Gly Arg Asn Leu Gln Asp Arg Glu
245 250 255

Ala Leu Thr Phe Gly Phe Asp Ala Asp Phe Gln Ile Glu Ser Tyr Leu
260 265 270

Arg His Gln Gly Met Thr Phe Val Asp Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr
275 280 285

Leu Tyr Met Thr Arg Ser Met Asp Tyr Phe Asp Leu Ala Ala Asp His
290 295 300 320

Gly Gly Arg Leu Ala Asp Ala Phe Ala Gly Thr Lys Thr Arg Phe Cys
305 310 315 320

Leu Val Ser Phe Thr Ser Asp Trp Leu Phe Pro Thr Glu Glu Ser Arg
325 330 335

Ser Ile Val His Ala Leu Asn Ala Ala Gly Ala Ser Val Ser Phe Val
340 345 350

Glu Ile Glu Thr Asp Arg Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Glu Pro
355 360 365

Glu Leu Phe Ala Ala Ile Asn Gly Phe Ile Gly Ser Ala Ala Arg Ala
 370 375 380

Arg Gly Leu Ser Ala
 385

<210> 43
 <211> 1155
 <212> DNA
 <213> acremonium crysogenum

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1152)
 <223> P39058

<400> 43
 tgt cgc ctc aga tcg cca atc gct tcg agg ctt cgc tag atg ccc aag 48
 Cys Arg Leu Arg Ser Pro Ile Ala Ser Arg Leu Arg Xaa Met Pro Lys
 1 5 10 15

aca tag cca gaa tat cgc tct tca cac tgg aat ctg gcg tca tcc ttc 96
 Thr Xaa Pro Glu Tyr Arg Ser Ser His Trp Asn Leu Ala Ser Ser Phe
 20 25 30

gcg atg tac ccg tgg cat aca aat cgt ggg gtc gca tga atg tct caa 144
 Ala Met Tyr Pro Trp His Thr Asn Arg Gly Val Ala Xaa Met Ser Gln
 35 40 45

ggg ata act gcg tca tcg tct gcc aca cct tga cga gca gcg ccc atg 192
 Gly Ile Thr Ala Ser Ser Ala Thr Pro Xaa Arg Ala Ala Pro Met
 50 55 60

tca cct cgt ggt ggc cca cac tgt ttg gcc aag gca ggg ctt tcg ata 240
 Ser Pro Arg Gly Gly Pro His Cys Leu Ala Lys Ala Gly Leu Ser Ile
 65 70 75 80

cct ctc gct act tca tca tct gcc taa att atc tcg gga gcc cct ttg 288
 Pro Leu Ala Thr Ser Ser Ala Xaa Ile Ile Ser Gly Ala Pro Leu
 85 90 95

gga gtg ctg gac cat gtt cac cgg acc ccg atg cag aag gcc agc gcc 336
 Gly Val Leu Asp His Val His Arg Thr Pro Met Gln Lys Ala Ser Ala
 100 105 110

cgt acg ggg cca agt ttc ctc gca cga cga ttc gag atg atg ttc gta 384
 Arg Thr Gly Pro Ser Phe Leu Ala Arg Arg Phe Glu Met Met Phe Val
 115 120 125

ttc atc gcc agg tgc tcg aca ggt tag gcg tca ggc aaa ttg ctg ccg 432
 Phe Ile Ala Arg Cys Ser Thr Gly Xaa Ala Ser Gly Lys Leu Leu Pro
 130 135 140

tag tcg gcg cat cca tgg gtg gaa tgc aca ctc tgg aat ggg cct tct 480
 Xaa Ser Ala His Pro Trp Val Glu Cys Thr Leu Trp Asn Gly Pro Ser
 145 150 155 160

ttg gtc ccg agt acg tgc gaa aga ttg tgc cca tcg cga cat cat gcc 528
 Leu Val Pro Ser Thr Cys Glu Arg Leu Cys Pro Ser Arg His His Ala
 165 170 175

gtc aga gcg gct ggt gcg cag ctt ggt tcg aga cac aga ggc agt gca 576

Val Arg Ala Ala Gly Ala Gln Leu Gly Ser Arg His Arg Gly Ser Ala
 180 185 190

tct atg atg acc cca agt acc tgg acg ggg agt acg acg tag acg acc 624
 Ser Met Met Thr Pro Ser Thr Trp Thr Gly Ser Thr Thr Xaa Thr Thr
 195 200 205

agc ctg tcc ggg ggc tcg aaa cag cgc gca aga ttg cga atc tca cgt 672
 Ser Leu Ser Gly Gly Ser Lys Gln Arg Ala Arg Leu Arg Ile Ser Arg
 210 215 220

aca aga gca aac ctg cga tgg acg acg gct tcc ata tgg ctc cag gag 720
 Thr Arg Ala Asn Leu Arg Trp Thr Ser Ala Ser Ile Trp Leu Gln Glu
 225 230 235 240

tcc aag ccg gcc gga ata tca gca gcc agg atg cga aga agg aaa tca 768
 Ser Lys Pro Ala Gly Ile Ser Ala Ala Arg Met Arg Arg Arg Lys Ser
 245 250 255

acg gca cag aca gcg gca aca gcc acc gtg ctg gcc agc cca ttg aag 816
 Thr Ala Gln Thr Ala Ala Thr Ala Thr Val Leu Ala Ser Pro Leu Lys
 260 265 270

ccg tat ctt cct atc tcc ggt acc agg ccc aga agt ttg ccg cga gct 864
 Pro Tyr Leu Pro Ile Ser Gly Thr Arg Pro Arg Ser Leu Pro Arg Ala
 275 280 285

tcg acg cca act gct aca tcg cca tga cac tca agt tcg aca ccc acg 912
 Ser Thr Pro Thr Ala Thr Ser Pro Xaa His Ser Ser Ser Thr Pro Thr
 290 295 300

aca tca gca gag gcc ggg cag gat caa tcc cgg agg ctc tgg caa tga 960
 Thr Ser Ala Glu Ala Gly Gln Asp Gln Ser Arg Arg Leu Trp Gln Xaa
 305 310 315 320

tta cac aac cag cgt tga tca ttt gcg cca ggt cag acg gtc tgt act 1008
 Leu His Asn Gln Arg Xaa Ser Phe Ala Pro Gly Gln Thr Val Cys Thr
 325 330 335

cgt ttg acg agc acg ttg aga tgg ggc gca gta tcc caa aca gtc gtc 1056
 Arg Leu Thr Ser Thr Leu Arg Trp Gly Ala Val Ser Gln Thr Val Val
 340 345 350

ttt gcg tgg tgg aca cga atg agg gtc atg act tct ttg taa tgg aag 1104
 Phe Ala Trp Trp Thr Arg Met Arg Val Met Thr Ser Leu Xaa Trp Lys
 355 360 365

cgg aca agg tta atg atg ccg tca gag gat tcc tcg atc agt cat taa 1152
 Arg Thr Arg Leu Met Met Pro Ser Glu Asp Ser Ser Ile Ser His Xaa
 370 375 380

tgt 1155

<210> 44
 <211> 384
 <212> PRT
 <213> acremonium crysogenum

<220>
 <221> unsure
 <222> 13 .. 13
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 18 .. 18
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 45 .. 45
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 59 .. 59
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 89 .. 89
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 137 .. 137
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 145 .. 145
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 206 .. 206
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 297 .. 297
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 320 .. 320
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 326 .. 326
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 366 .. 366
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
<221> unsure
<222> 384 .. 384
<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<400> 44
Cys Arg Leu Arg Ser Pro Ile Ala Ser Arg Leu Arg Xaa Met Pro Lys

1 5 10 15

Thr Xaa Pro Glu Tyr Arg Ser Ser His Trp Asn Leu Ala Ser Ser Phe
20 25 30

Ala Met Tyr Pro Trp His Thr Asn Arg Gly Val Ala Xaa Met Ser Gln
35 40 45

Gly Ile Thr Ala Ser Ser Ala Thr Pro Xaa Arg Ala Ala Pro Met
50 55 60

Ser Pro Arg Gly Gly Pro His Cys Leu Ala Lys Ala Gly Leu Ser Ile
65 70 75 80

Pro Leu Ala Thr Ser Ser Ala Xaa Ile Ile Ser Gly Ala Pro Leu
85 90 95

Gly Val Leu Asp His Val His Arg Thr Pro Met Gln Lys Ala Ser Ala
100 105 110

Arg Thr Gly Pro Ser Phe Leu Ala Arg Arg Phe Glu Met Met Phe Val
115 120 125

Phe Ile Ala Arg Cys Ser Thr Gly Xaa Ala Ser Gly Lys Leu Leu Pro
130 135 140

Xaa Ser Ala His Pro Trp Val Glu Cys Thr Leu Trp Asn Gly Pro Ser
145 150 155 160

Leu Val Pro Ser Thr Cys Glu Arg Leu Cys Pro Ser Arg His His Ala
165 170 175

Val Arg Ala Ala Gly Ala Gln Leu Gly Ser Arg His Arg Gly Ser Ala
180 185 190

Ser Met Met Thr Pro Ser Thr Trp Thr Gly Ser Thr Thr Xaa Thr Thr
195 200 205

Ser Leu Ser Gly Gly Ser Lys Gln Arg Ala Arg Leu Arg Ile Ser Arg
210 215 220

Thr Arg Ala Asn Leu Arg Trp Thr Ser Ala Ser Ile Trp Leu Gln Glu
225 230 235 240

Ser Lys Pro Ala Gly Ile Ser Ala Ala Arg Met Arg Arg Arg Lys Ser
245 250 255

Thr Ala Gln Thr Ala Ala Thr Ala Thr Val Leu Ala Ser Pro Leu Lys
260 265 270

Pro Tyr Leu Pro Ile Ser Gly Thr Arg Pro Arg Ser Leu Pro Arg Ala
275 280 285

Ser Thr Pro Thr Ala Thr Ser Pro Xaa His Ser Ser Ser Thr Pro Thr
290 295 300

Thr Ser Ala Glu Ala Gly Gln Asp Gln Ser Arg Arg Leu Trp Gln Xaa
305 310 315 320

Leu His Asn Gln Arg Xaa Ser Phe Ala Pro Gly Gln Thr Val Cys Thr
325 330 335

Arg Leu Thr Ser Thr Leu Arg Trp Gly Ala Val Ser Gln Thr Val Val

340

345

350

Phe Ala Trp Trp Thr Arg Met Arg Val Met Thr Ser Leu Xaa Trp Lys
 355 360 365

Arg Thr Arg Leu Met Met Pro Ser Glu Asp Ser Ser Ile Ser His Xaa
 370 375 380

<210> 45
 <211> 1077
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1074)
 <223> AAK49778

<400> 45
 atg tca act gtc ttt ccc gaa gat tcc gtc ggt ctg gta gta cg⁴⁸
 Met Ser Thr Val Phe Pro Glu Asp Ser Val Gly Leu Val Val Arg Gln
 1 5 10 15

acc tcc cgg ttc gat gaa ccg ctg gca ctg gcc tgc ggc cgt tca ctg 96
 Thr Ser Arg Phe Asp Glu Pro Leu Ala Leu Ala Cys Gly Arg Ser Leu
 20 25 30

gcc agt tac gaa ctg gtc tac gag acc tat ggc acc ctg aac gcc agc 144
 Ala Ser Tyr Glu Leu Val Tyr Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Ser
 35 40 45

g^cg agc aac g^cc gtg ctg atc tgc cat g^cc ctg tcc g^cc cac cac cat 192
 Ala Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His
 50 55 60

g^cc g^ct g^cc tac cat g^cc g^cc acc g^cc g^cc aag ccg g^cc tgg tgg g^cc 240
 Ala Ala Gly Tyr His Ala Ala Thr Asp Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp
 65 70 75 80

agc tgc atc g^cc ccc g^cgaaa ccg atc gat acc aac ccg ttc ttc gtg 288
 Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Asn Arg Phe Phe Val
 85 90 95

g^ct agc ctg aac aac ctc g^cc g^cc tgc aac g^cc agc acc g^cc ccc agc 336
 Val Ser Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Thr Gly Pro Ser
 100 105 110

agt g^ct aac cca g^cc acc g^ct aaa ccc tat g^cc g^cc gag ttc ccg g^ct 384
 Ser Val Asn Pro Ala Thr Gly Lys Pro Tyr Gly Ala Glu Phe Pro Val
 115 120 125

ttg acc gtg gaa gac tgg gtg cac agc cag gca cgg ctg g^cc gac cgc 432
 Leu Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Arg
 130 135 140

ctg g^cc atc cag cag tgg gca g^ct atc g^ct g^cc g^ct agc ctg g^ct g^cc 480
 Leu Gly Ile Gln Gln Trp Ala Ala Ile Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly
 145 150 155 160

atg cag gcg ctg caa tgg acg atg acc tac ccc gag cgc gta cgc cac	528
Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Met Thr Tyr Pro Glu Arg Val Arg His	
165 170 175	
tgc gtc gac att gcc tcg gcc ccc aag ctg tcg gcg cag aac atc gcc	576
Cys Val Asp Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala	
180 185 190	
ttc aac gag gtg gcg cgt cag gcc att ctt acc gac cct gag tac cgc	624
Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Glu Tyr Arg	
195 200 205	
aga ggc tcg ttt cca gga cca ggt gtg atc ccc aag cgc ggc ctg atg	672
Arg Gly Ser Phe Pro Gly Pro Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Met	
210 215 220	
ctg gca cgg atg gtc ggc cac att acc tat ctg tcc gat gat tcg atg	720
Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met	
225 230 235 240	
ggt gaa aaa ttc ggc cga gag ctg aaa gcg aca agc tca act acg act	768
Gly Glu Lys Phe Gly Arg Glu Leu Lys Ala Thr Ser Ser Thr Thr Thr	
245 250 255	
tcc aca gcg tcg agt tcc agg tcg aaa gct acc tgc gct atc agg gcg	816
Ser Thr Ala Ser Ser Arg Ser Lys Ala Thr Cys Ala Ile Arg Ala	
260 265 270	
agg agt ttt ccg gcc gtt tcg acg cca aca cct acc ttg atg acc aag	864
Arg Ser Phe Pro Ala Val Ser Thr Pro Thr Pro Thr Leu Met Thr Lys	
275 280 285	
gca ctg gac tat ttc gac ccg gcc acg cac ggt ggt gat ctg gcc	912
Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Thr His Gly Gly Asp Leu Ala	
290 295 300	
gcc acc ctg gcc cac gtc acg gcg gac tac tgc atc tgt cgt tca cca	960
Ala Thr Leu Ala His Val Thr Ala Asp Tyr Cys Ile Cys Arg Ser Pro	
305 310 315 320	
ccg act gcg ctt ctc tcc ggc ccg ttc gcg cga gat cgt cga cgc gct	1008
Pro Thr Ala Leu Leu Ser Gly Pro Phe Ala Arg Asp Arg Arg Arg Ala	
325 330 335	
gat ggc cgc gcg caa gaa cgt ctg cta cct gga gat cga ttc gcc cta	1056
Asp Gly Arg Ala Gln Glu Arg Leu Leu Pro Gly Asp Arg Phe Ala Leu	
340 345 350	
cgg gca cga tgc att tcc tga	1077
Arg Ala Arg Cys Ile Ser	
355	

<210> 46
 <211> 358
 <212> PRT
 <213> *Pseudomonas putida*

<400> 46
 Met Ser Thr Val Phe Pro Glu Asp Ser Val Gly Leu Val Val Arg Gln
 1 5 10 15

Thr Ser Arg Phe Asp Glu Pro Leu Ala Leu Ala Cys Gly Arg Ser Leu

20

25

30

Ala Ser Tyr Glu Leu Val Tyr Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Ser
35 40 45

Ala Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His
50 55 60

Ala Ala Gly Tyr His Ala Ala Thr Asp Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp
65 70 75 80

Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Asn Arg Phe Phe Val
85 90 95

Val Ser Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Thr Gly Pro Ser
100 105 110

Ser Val Asn Pro Ala Thr Gly Lys Pro Tyr Gly Ala Glu Phe Pro Val
115 120 125

Leu Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Arg
130 135 140

Leu Gly Ile Gln Gln Trp Ala Ala Ile Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly
145 150 155 160

Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Met Thr Tyr Pro Glu Arg Val Arg His
165 170 175

Cys Val Asp Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala
180 185 190

Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Glu Tyr Arg
195 200 205

Arg Gly Ser Phe Pro Gly Pro Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Met
210 215 220

Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met
225 230 235 240

Gly Glu Lys Phe Gly Arg Glu Leu Lys Ala Thr Ser Ser Thr Thr Thr
245 250 255

Ser Thr Ala Ser Ser Arg Ser Lys Ala Thr Cys Ala Ile Arg Ala
260 265 270

Arg Ser Phe Pro Ala Val Ser Thr Pro Thr Pro Thr Leu Met Thr Lys
275 280 285

Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Thr His Gly Gly Asp Leu Ala
290 295 300

Ala Thr Leu Ala His Val Thr Ala Asp Tyr Cys Ile Cys Arg Ser Pro
305 310 315 320

Pro Thr Ala Leu Leu Ser Gly Pro Phe Ala Arg Asp Arg Arg Ala
325 330 335

Asp Gly Arg Ala Gln Glu Arg Leu Leu Pro Gly Asp Arg Phe Ala Leu
340 345 350

Arg Ala Arg Cys Ile Ser

<210> 47
<211> 52
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 47
cccggtatcc gctagcggcg cgccggccgg cccgggtgtga aataccgcac ag

52

<210> 48
<211> 53
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 48
tctagactcg agcggcccgcg gccggccttt aaattgaaga cgaaagggcc tcg

53

<210> 49
<211> 47
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 49
gagatctaga cccggggatc cgctagcggg ctgctaaagg aagcgga

47

<210> 50
<211> 38
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 50
gagaggcgcg ccgctagcgt gggcgaagaa ctccagca

38

<210> 51
<211> 34
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 51
gagagggcgg ccgcgcaaag tcccgcttcg tgaa

34

<210> 52
<211> 34
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 52
gagagggcgg ccgctcaagt cggtaagcc acgc

34

<210> 53
<211> 140
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 53
tcgaatttaa atctcgagag gcctgacgtc gggcccgta ccacgcgtca tatgactagt 60
tcggacctag ggatatcgta gacatcgatg ctcttctgct ttaattaaca attggatcc 120
tctagacccg ggatttaaat 140

<210> 54
<211> 140
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 54
gatcatattaa atcccggtc tagaggatcc caattgttaa ttaacgcaga agagcatcga 60
tgtcgacgt atcccttaggt ccgaactagt catatgacgc gtggtaccgg gcccgcacgtc 120
aggcctctcg agatttaaat 140

<210> 55
<211> 33
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 55
gagagcggcc gccgatcctt tttaaccat cac

33

<210> 56
<211> 32
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 56
aggagcggcc gccatcgca ttttctttg cg

32

<210> 57
<211> 5091
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 57

gccgcgactg ccttcgcgaa gccttgc(ccc gcggaaat(t cctccaccga gttcgtgcac 60
accctatgc caagcttctt tcaccctaaa ttcgagagat tggattctt ccgtggaaat 120
tcttcgcaaa aatcgcccc tgatcgccct tgcgacgtt gcgtcggtgc cgctgggtgc 180
gcttggctt accgacttga tcagcgccg ctcgattaa atctcgagag gcctgacgtc 240
gggccccgta ccacgcgtca tatgactagt tcggacccat ggatatcgac gacatcgatg 300
cttttcgtcg ttaattaaca attggatcc tctagacccg ggatttaat cgctagcggg 360
ctgcttaaagg aagcggaaaca cgtagaaagc cagtccgcag aaacggtgct gaccccgat 420
aatgtcagc tactggctt tctggacaag gaaaaacgca agcgaaaga gaaagcaggt 480
agcttcgagt gggcttacat ggcgatagct agactggcg gtttatgga cagcaagcga 540
accggaaattt ccagctgggg cgccctctgg taagggttggg aagccctgca aagtaaactg 600
gatggcttcc ttgccc(ccaa ggatctgtg ggcgcaggga tcaagatctg atcaagagac 660
aggatgagga tcgtttcgca tgattgaaca agatggattt caccgcagggtt ctccggccgc 720
ttgggttggag aggcatttcg gctatgtactg ggcacacaacag acaatcggt gctctgtatgc 780
cgccgtgttc cggctgtcag cgcaggggcg cccgggttcc ttgtcaaga ccgacccgtc 840
cggtgcctt aatgaactgc aggacgcaggc agcgcggcta tcgtggctgg ccacgcacggg 900
cgttccctgc gcagctgtgc tcgacgttgc gactgaagcg ggaagggact ggctgttatt 960
gggcgaagtg cccggggcagg atctccgtc atctcacctt gctccctgccc agaaagtatc 1020
catcatggct gatgcaatgc ggcggctgca tacgcttgcgat ccggcttacat gcccattcga 1080
ccaccaagcg aaacatcgca tcgagcgcaggc acgtactcgg atggaagccg gtcttgcga 1140
tcaggatgtat ctggacgaaag agcatcaggc gtcgcgcca gccgaactgt tcgcccaggct 1200
caaggcgcgc atgcccgcacg gcgaggatct cgtcgtgacc catggcgatg cctgcttgc 1260
gaatatcatg gtggaaaatg gccgcgtttt tggattcatc gactgtggcc ggctgggtgt 1320
ggcggaccgcg tattcaggaca tagcgttggc taccctgtat attgctgaag agcttggcg 1380
cgaatgggcg taccgcgttcc tcgtgtttt cggatcgcc gctcccgatt cgcagcgcatt 1440
cgcccttctat cgcccttctt acgagttttt ctgagcgatc ctgagcgggta ctctgggtt 1500
gaccaaggcg cggccaaacct gccatcacga gatttcgatt ccacccgcgc cttctatgaa 1560
aggttgggcg tcggaatctg tttccgggac gccggcttgg tgatccctcca ggcgcgggat 1620
ctcatgttgg agtttttcgc ccacgcgtac ggcgcgccc ccggcccggt gtgaaatacc 1680
gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcac caggcgctct tccgcttccct cgctcaactga 1740
ctcgctgcgc tcggtcgttcc ggctgcggcg acggttatcc acagaatcag gacggatcc 1800
acggttatcc acagaatcag gggataacgc agggaaagaa atgtgagcaa aaggccagca 1860
aaaggccagg aaccgtaaaaa aggccgcgtt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc 1920
tgacgagcat cacaaaaatc gacgcgtcaag tcagagggtgg cgaaacccga caggactata 1980
aagatacccg gctttcccc ctggaaagctc cctcgtgcgc tctctgttcc cgaccctgccc 2040
gcttaccggc tacctgtccg ctttctccc ttcgggaagc gtggcgctt ctcatagctc 2100
acgctgttgg tatctcgttcc cggtgttagt cgttcgtcc aagctgggct gtgtgcacga 2160
accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tategtctt agtccaaccc 2220
ggtaaagacac gacttacgc cactggcagg agccactgtt aacaggatta gcagagcgg 2280
gtatgttaggc ggtgttacag agtttttgcg gtgggtggct aactacggct acactagaag 2340
gacagtattt ggtatctgcg ctctgttgc ggcgttacc ttccggaaaaa gagttggtag 2400
ctcttgcgtcc ggcaaaacaaa ccaccgttcc tagcggtgtt tttttgttt gcaagcagca 2460
gattacgcgc agaaaaaaaag gatctcaaga agatccttgc atctttcttca cggggcttgc 2520
cgctcaatggc aacggaaaact cacgttacgg gatttggc atgagattat caaaaaggat 2580
cttcacccgtt atcctttttaa aggccggccg cggccgcgc aagtcccgct tcgtggaaat 2640
tttcgttccg cgtattttc cgccaaaaac tttaacgaac gttcggttata atgggtgtcat 2700
gaccccttacg acgaaagtact aaaattggcc cgaatcatca gctatggatc tctctgtatgt 2760
cgcgctggag tccgacgcgc tcgtatgtgc cgtcgattt aaaacgggtga tcggatttt 2820
ccgagctctc gatacgacgg acgcgcgcgc atcagcagac tggccagtg cgcgcagcga 2880
cctagaaaact ctcgtgggg atcttggaa gctggctgac gagctgcgtg ctggccagc 2940
gccaggagga cgcacagtat tggaggatgc aatcagttgc gcctactgcg gtggctgtat 3000
tcctcccccgg cctgacccgc gaggacggcg cgcaaaatat tgcgtcgtgc 3060
cgcagccagc cgcgagcgcgc ccaacaaacg ccacgcgcag gagctggagg cggctaggc 3120
gcaaatggcg ctggaaagtgc gtcccccgag cgaaattttg gccatggcgtc tcacagagct 3180

ggaagcggca gcgagaattt tcgcgatcggt ggcgggtcccc gcaggcatga caaacatcg 3240
 aaatcccgcg tttcgtgtgc cgtggccgccc caggacgtgt cagcgccgccc accacctgca 3300
 ccgaatccgc agcagcgtcg cgcgtcgaaa aagcgacacag gcgcaagaa gcgataagct 3360
 gcacgaatac ctgaaaaatg ttgaacgccc cgtgagcggt aactcacagg gctcggtcta 3420
 accccccatgc caaacctggg agaaacgcgt caaaaatgac tctagcggtat tcacgagaca 3480
 ttgacacacc ggcctggaaa tttccgctg atctgttgc caccatccc gagctcgcc 3540
 tgcgatcacc tggctggacg agcgaagacc gccgcgaatt cctcgctcac ctggcagag 3600
 aaaatttcca gggcagcaag acccgcgact tcgcccagcgc ttgatcaaa gacccggaca 3660
 cggagaaaaca cagccgaagt tataccgagt tggttcaaaa tcgcttgcgc ggtccagta 3720
 tggtgcgtcg aecacgcgc agcacgcgc cgtgcttgc ctgacattt atgtggcag 3780
 ccaccaggcc ggcggaaaaa tcgagcacgt aaaccccgag gtctacgcg ttttggagcg 3840
 ctgggcacgc ctggaaaaag cgccagctt gatcggtcg aatccactga ggggaaatg 3900
 ccagctcattc tggctcattt atccgggtt tgccgcagca ggcacatgac gcccgaatat 3960
 ggcctgtcg gtcgacacgca cggagggaaat gacccgcgtt ttccggcgtt accaggctt 4020
 ttcacatagg ctgagccgtt gccactgcac tctccgacga tcccagccgtt accgctggca 4080
 tgcccagcac aatcgctgg atcgcttagc tgatctttagt gaggttgcgc gcatgatctc 4140
 aggacacagaa aaacctaaaaa aacgctatga gcaggagtt tctagcggtt gggcacgtat 4200
 cgaagcggca agaaaagcca ctgcggaaag aaaagactt gccacgcgtt aagcaagcct 4260
 gccgagcgc gctgaaagcgt ctggagagct gatcgacggc gtccgtgtcc tctggactgc 4320
 tccaggcgt gccgcccgtt atgagacggc ttttcgcac gctttgactg tggatacca 4380
 gttaaaagcg gctgggtgagc gcctaaaaaa caccagggtt catcgacgc acgagcgtgc 4440
 ctacacgcgc gtcaggcgg tcggaggagg ccgtgaccc gatctggcgc cggactgtga 4500
 cccgcacgacg gattggccgc gacgtgtcg cggctacgtc gctaaaggcc agccagtcgt 4560
 ccctgctcgtt cagacagaga cgcagacca gccgaggcga aaagctctgg ccactatggg 4620
 aagacgtggc ggtaaaaagg ccgcagaacg ctggaaagac ccaaacagtg agtacgccc 4680
 agcacacgcgaa gaaaaacttag ctaagtccag tcaacgacaa gcttaggaaa ctaaaggaaa 4740
 tcgcttgcacc attgcagggtt gtttatgac ttttggggaa gagactggct cgtggccgac 4800
 aatcaatgaa gctatgtctg aatttagcgt gtcacgtcag accgttaa gagcaactaa 4860
 ggtctgcggg cattgaactt ccacgaggac gccgaaagct tcccgataaa tgtgcacatct 4920
 cgtaggcaga aaacggttcc cccgttagggt ctctctttt gcctcccttc taggtcgggc 4980
 tgattgcgtt tgaagctctc tagggggctt cacaccatag gcagataacg ttccccaccg 5040
 gctcgctcg taagcgcaca aggactgctc ccaaagatct tcaagccac t 5091

<210> 58
 <211> 4323
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 58
 tctctcagcg tatggttgtc gcctgagctg tagttgcctt catcgatgaa ctgctgtaca 60
 ttttgatagc ttttccgtc accgtcaaaat attgattttt aatctctac accgtttagt 120
 ttcaaaagacg tttctgtatgc tgatacgta acttgtgcag ttgtcagtgt ttgtttccg 180
 taatgtttac cggagaaaatc agttagaaat aaacggattt ttccgtcaga tggtaatgtg 240
 gctgaacctg accattcttgc ttgttgcgtt tttaggatag aatcatttgc atcgaatttgc 300
 tcgctgtctt taaagacgcg gccagcggtt ttccagctgtt caatagaagt ttcgcccact 360
 ttttgataga acatgttaaat cgatgtgtca tccgcatttt tagatctcc ggctaattgca 420
 aagacgtgtt ggtagccgtt atagtttgcg acagtgcgtt cagcgttttgc taatggccag 480
 ctgtcccaaa cgtccaggcc ttgtcgacaa gagatatttt taattgtggc cgaatcaa 540
 tcagaaactt gatatttttgc attttttgc ttgttcaggaa ttgcagcat atcatggcgt 600
 gtaatatggg aatgcgtt tttttcccttta tatggctttt ggttcgtttc ttcgcaaa 660
 gcttgagttt cgcctccgtc cagcagtgcg gtatggaaagg ttaataactgt tgcttgcattt 720
 gcaaactttt tgatgttcat cgttcatgtc ttcttttttgc tgactgtgt tagcggctgt 780
 cttctccat cccctctgtt tgaagatggc aagtttagttt cgcacataaa aaaaagacct 840
 aaaaatatgtt aagggtgtacg ccaaagtata cactttgcctt ttacacattt ttaggtcttg 900
 cctgcttcat cagtaacaaa cccgcgcgtt ttacttttgc acctcattctt attagactct 960
 cgtttggatt gcaactgggtc tattttccctc ttgttgcgtt tagaaaatca taaaaggatt 1020
 tgcagactac gggcctaaag aactaaaaaa tctatctgtt tcttttcattt ctctgtat 1080
 ttatagttt ctgttgcattt ggcataaaatgt tgccttttgc atcacaatttca agaaaatatc 1140

ataatatctc atttcactaa ataatagtga acggcaggtt tatgtgatgg gttaaaaagg 1200
 atccgcggcc gctcgattt aatctcgaga ggcctgacgt cggggcccggt accacgcgtc 1260
 atatgactag ttccggaccta gggatatcggt cgacatcgat gctcttctgc gttaaattaac 1320
 aattgggatc ctctagaccc gggatttaaa tcgctagcgg gctgctaaag gaagcggAAC 1380
 acgttagaaag ccagtccgca gaaacgggtc tgacccccggta tgaatgtcag ctactgggct 1440
 atctggacaa gggaaaacgc aagcgcAAAG agaaaagcagg tagcttgcag tgggcttaca 1500
 tggcgatacg tagactgggc ggtttatgg acagcaagcg aaccggatt gccagctggg 1560
 gcccgcctcg gtaagggttgg gaagccctgc aaagtaact ggtatggctt cttgcggcca 1620
 aggatctgat ggcgcagggg atcaagatct gatcaagaga caggatgagg atcggttcgc 1680
 atgattgaac aagatggatt gcacgcagg tctccggccg cttgggttgg gaggctattc 1740
 ggctatgact gggcacaaca gacaatcgcc tgctctgatg cggccgttt ccggctgtca 1800
 ggcgcaggggc gcccgttct ttttgcataag accgcacctgt ccgggtccctt gaatgaactg 1860
 caggacgagg cagcgcggct atcggtggctg gccacgacgg gcttcccttgc cgcagctgt 1920
 ctgcacgttgc tcaactgaagc gggaaaggac tggctgttat tggcgaagt gccggggcag 1980
 gatctctgtt catctcacct tgctctgccc gagaaggat ccatcatggc tgatgcaatg 2040
 cggcggtcgc atacgcgttgc tccggctacc tgcccatcg accaccaagc gaaacatcg 2100
 atcgagcggag cacgtactcg gatggaaagcc ggtttgtcg atcaggatga tctggacgaa 2160
 gagcatcagg ggctcgccg acggaaactg ttcgcaggc tcaaggcggc catgcccggc 2220
 ggcgaggatc tcgtcggtac ccattgcgttgc gcaatatcat ggtggaaaat 2280
 ggccgtttt ctggattcat cgactgtggc cggctgggtg tggcggacgg ctatcaggac 2340
 atagcgttgg ctaccgttgc tattgtgaa gagcttggcg gcaatgggc tgaccgttc 2400
 ctgcgtgtt acggtatcgcc cgctcccgat tcgcaggcgc tcgccttctt 2460
 gacgaggatc tctgagcggtt actctgggt tgcggatgac cgaccaagcg acggccaaacc 2520
 tgccatcacg agatttcgtt tccacccggc cttctatgc aaggttgggc ttcggaaatcg 2580
 tttccggga cggcggttgc atgatctcc agcgcggggg ttcatgtcg gagttttcg 2640
 cccacgttag cggcgccggc gcccggccgg tggaaatac cgcacagatg cgttaaggaga 2700
 aaataccgca tcaggcgctc ttccgttcc tcgctactg actcgctcg ctcggcggtt 2760
 cggctcgccg gagcggtatc agctcaactca aaggcggtaa tacggatc cacagaatca 2820
 ggggataaacg cagggaaagaa catgtgagca aaggccggc aaaaaggccag gaaccgtaaa 2880
 aaggccgggt tgctggcggtt ttccatagg ctccggccccc ctgcaggagca tcacaaaaat 2940
 cgacgctcaa gtcagagggtg gcaaaacccg acaggactat aaagatacca ggcgtttccc 3000
 cctggaaagct ccctcggtcg ctctctgtt cgcacccctgc cgcttaccggg atacctgtcc 3060
 gccttctcc ctccggaaag cgtggcgctt ttcatagct cacgtgttag gtatctcgt 3120
 tcgggtgttgc tcgttcgtcc caagctggc tggcgtgcacg aaccccccgt tcagcccgac 3180
 cgctcgccct tatccggtaa ctatcgctt gaggatcacc cggtaagaca cgacttatacg 3240
 ccactggcag cagccactgg taacaggatt agcagagcga ggtatgttagg cggtgctaca 3300
 gagtttttgc agtgggtggcc taactacggc tacactagaa ggacagtatt tggatctgc 3360
 gtcgtgttgc agccagttac ctgcggaaaa agagttggta gtcgttgcacg cggcaaccaa 3420
 accaccgctg gtacgggtgg tttttgtt tgcaggcgc acagatgttt tcttcgtttt 3480
 ggatctcaag aagatctttt gatctttct acgggggtctg acgttcgtt gaaacggaaaac 3540
 tcacgtttaag ggattttggt catgagatta tcaaaaaggat ttcgttccatca gatcctttta 3600
 aaggccggcc gcccggccca tcggcattttt ttttgcgtt tttttttttt aactgttaat 3660
 tggccttgc tcaaggatgtc gtcttcgtaca acagatgttt tcttcgtttt gatgttcagc 3720
 aggaagctcg ggcggaaacgt tgattttttg tctgcgttaga atcctctgtt tgcataatag 3780
 ctgttaatca cgacattgtt tccttcgttgc tgaggatcag cgaagtgtga gtaagtaaag 3840
 gttacatcgtaggatcaag atccatttt aacacaaggc cagttttgtt cagcgggttg 3900
 tatggccag taaaagaatt agaaacataa ccaagcatgt aaatatcgat agacgtaatg 3960
 ccgtcaatcg tcatttttgc tccgcggggag tcgtgaaca ggttaccattt gccgttccatt 4020
 taaaagacgt tcgcgcgttc aatttcatct gttactgtgt tagatgtca taccggagac gccgtttgt 4080
 atcaactttt tcagtgttgc atcatcggtt agctcaatca taccggagac gccgtttgt 4140
 aactcagccg tgcgtttttt atcgcttgc agaagttttt gactttcttgc acggaagaat 4200
 gatgtgttgc ttccatagta tgctttgttgc aataaaagatt cttcgccttgc ttagccatct 4260
 tcagttccag tgggttgcattt aaataactaag tattttgtggc ctttatcttgc tacgtgtga 4320
 gga

4323

<210> 59
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR Primer

tcaggttcag ggcaactgg a ccaatgtgct ttacgacgac caggtcggca aagtctccct	1200
cgtgggtgct ggcatgaagt ctcacccagg ttttaccgca gagttcatgg aagctctgct	1260
cgatgtcaac gtgaacatcg aattgatttc cacctctgag attcgtatcc cctgtgtat	1320
ccgtgaagat gatctggatg ctgctgcacg tgcattgcat gagcagttcc agctggcg	1380
cgaagacgaa gccgtcgaaa atgcaggcac cggacgctaa agttttaaag gagtagttt	1440
acaatgacca ccatcgactg ttttgggtgca accggccagg tcggccaggt tatgcgcacc	1500
cttttggaaag agcgcaattt cccagctgac actgttcgtt tctttgttc cccacgttcc	1560
gcaggccgta agattgaattt cgtcgacatc gatgtcttc tgcgttaatt aacaattggg	1620
atccctctaga cccgggattt aaatcgctag cgggctgcta aaggaagcgg aacacgtaga	1680
aagccagtcc gcagaaacgg tgctgacccc ggatgaatgt cagctactgg gctatctgga	1740
caagggaaaaa cgcaagcgc aagagaaagc aggtagctt cagtggcattt acatggcgat	1800
agctagactg ggccgtttt tggacagcaa gcgaaccgga attgccagct gggcgccct	1860
ctggtaaggt tggaaagccc tgcaaagtaa actggatggc tttttgtcc ccaaggatct	1920
gatggcgcag gggatcaaga tctgatcaag agacaggatg aggatcgatcc cgcattgtt	1980
aacaagatgg attgcacgaa gtttccgg ccgttgggt ggagaggcta ttcggctatg	2040
actggcaca acagacaatc ggctgctctg atgcccggct gttccggctg tcagcgcagg	2100
ggcccccgt tcttttgtc aagaccgacc tgcgttgc cctgaatgaa ctgcaggacg	2160
aggcagcgcg gctatcggtt ctggccacga cggcggttcc ttgcgcagct gtgcgcacg	2220
ttgtcaactga agcgggaagg gactggctgc tattggcga agtgcggggg caggatctcc	2280
tgtcatctca ctttgcctt gcccggaaat tatccatcat ggctgatgca atgcggcggc	2340
tgcatacgct tgatccggctt acctgcccatt tcgaccacca agcgaaacat cgcattgcgc	2400
gagcacgatc tcggatggaa gccggcttgc tcgatcagga tgatctggac gaagagcatc	2460
aggggctcgc gccagccgaa ctgttcgcca ggctcaaggc gcgcattggcc gacggcgagg	2520
atctcgctgt gacccatggc gatgcctgct tgccgaatat catggggaa aatggccgct	2580
tttctggatt catcgactgt ggccggctgg gtgtggcgga ccgttatcag gacatagcgt	2640
tggctacccg tgatattgctt gaagagcttgc gcccggatg ggctgaccgc ttctcggtc	2700
tttacggatcgccatcc gattcgacgc gcatgcctt ctatgcctt cttgacgcgt	2760
tcttctgagc gggactctgg gtttcgaaat gaccgaccaa gcgcacggccaa acctgcccattc	2820
acgagatttc gattccacccg ccgcatttcta tgaaaggttt ggcttcggaa tcgtttccg	2880
ggacgcggc tggatgatcc tccagcgcgg ggatctcatg ctggagttct tcgcccacgc	2940
tagcggcgcg ccggccggcc cgggtgtgaaa taccgcacag atgcgttaagg agaaaatacc	3000

gcatcaggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc gttcggtgc 3060
ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcggt taatacggtt atccacagaa tcagggata 3120
acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaaggcc agcaaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg 3180
cggtgctggc gttttccat aggctccgccc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct 3240
caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcggtt cccctggaa 3300
gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggtacactg tccgccttc 3360
tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gtcacgctg taggtatctc agttcggtgt 3420
aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaacccccc cggtcagccc gaccgctgctg 3480
ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaaag acacgactta tcgcccactgg 3540
cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct 3600
tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtatac tgcgctctgc 3660
tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagcttttgc atccggcaaa caaaccacccg 3720
ctggtagcgg tggttttttt gtttgcggc acgagattac ggcggaaaaaa aaaggatctc 3780
aagaagatcc tttgatctt tctacgggt ctgacgctca gtggAACGAA aactcacgtt 3840
aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaaggccg 3900
gccgcggccg ccatcggcat tttctttgc gtttttattt gttaactgtt aattgtcctt 3960
gttcaaggat gctgtctttt acaacagatg ttttcttgcc tttgatgttc agcaggaagc 4020
tcggcgcaaa cggtgattgt ttgtctgcgt agaattcttct gtttgcata tagcttgc 4080
tcacgacatt gtttctttc gtttgcggc cagcgaagtg tgtagtaagta aaggatcacat 4140
cgtaggatc aagatccatt tttaacacaa ggccagttt gttcagcggc ttgtatgggc 4200
cagttaaaga attagaaaca taaccaagca tgtaaatatc gtttagacgta atgcccgtcaa 4260
tcgtcatttt tgatccgcgg gagtcagtga acaggtacca tttgcgttc attttaaaga 4320
cgttcgcgcg ttcaatttca tctgttactg tgtagatgc aatcagcggt ttcatcactt 4380
ttttcagtgt gtaatcatcg tttagctcaa tcataccgag agcggcggtt gctaactcag 4440
ccgtgcgttt ttatcgctt tgcaagtt tttgacttgc ttgacggaaag aatgatgtgc 4500
ttttgccata gtagctttt gtaataaaag attcttcgccc ttggtagcca tcttcagtgc 4560
cagtgtttgc ttcaaaatact aagtattgt ggcccttatac ttctacgttag tgaggatctc 4620
tcagcgatcg gttgtcgctt gagctgttagt tgccttcata gatgaactgc tgtacatttt 4680
gatacgtttt tccgtcacccg tcaaagattg atttataatc ctctacaccg ttgatgtca 4740
aagagctgtc tgatgctgat acgttaactt gtgcagttgt cagtgtttgt ttggcgtaat 4800
gtttaccgga gaaatcagtg tagaataaaac ggattttcc gtcagatgta aatgtggctg 4860
aacctgacca ttcttgcgtt tggtcttttta ggatagaatc atttgcacg aatttgcgc 4920

tgtctttaaa gacgcggcca	gcgttttcc agctgtcaat	agaagttcg ccgactttt	4980
gatagaacat gtaaatcgat	gtgtcatccg catttttagg	atctccggct aatgcaaaga	5040
cgatgtggta gccgtgata	tttgcacag tgccgtcagc	gttttgaat ggccagctgt	5100
cccaaacgtc caggccttt	gcagaagaga tattttaa	tgtggacgaa tcaaattcag	5160
aaacttgata ttttcattt	tttgctgtt cagggattt	cagcatatca tggcgtgtaa	5220
tatggaaat gccgtatgtt	tccttatatg gctttggtt	cgtttcttc gcaaacgctt	5280
gagttgcgc	tcctgccagc agtgcggtag	taaaggtaa tactgttgc	5340
acttttgat gttcatcg	tttgcgtt catgtctcct	ctgtgttagc ggtctgcttc	5400
ttccagccct cctgtttgaa	gatggcaagt tagttacgca	caataaaaaaa agacctaaaa	5460
tatgttaaggg	gtgacgccaa agtatacact	ttgccctta cacattttag	5520
ctttatcagt aacaaacccg	cgcgatttac tttcgacct	cattctatta gactctcg	5580
tggattgcaa ctggcttatt	ttcctctttt gtttgataga	aaatcataaa aggatttgca	5640
gactacgggc ctaaagaact	aaaaaatcta tctgtttctt	ttcattctct gtattttta	5700
tagttctgt tgcattggca	taaagttgcc ttttaatca	caattcagaa aatatcataa	5760
tatctcattt cactaaataa	tagtgaacgg caggtatatg	tgatgggtta aaaaggatcg	5820
gcggccgctc	gatttaaatc tcgagaggcc	tgacgtcggg	5860

<210> 62

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR Primer

<400> 62

cggcaccacc gacatcatct tcacctgccc tcgttccg

38

<210> 63

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR Primer

<400> 63

cggaacgagg gcaggtgaag atgatgtcgg tgggtcccg

38

<210> 64

<211> 1266

<212> DNA

<213> LysC Mutante

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1266)

<223>

<400> 64

gtg gcc ctg gtc gta cag aaa tat ggc ggt tcc tcg ctt gag agt gcg 48
 Val Ala Leu Val Val Gln Lys Tyr Gly Ser Ser Leu Glu Ser Ala
 1 5 10 15

gaa cgc att aga aac gtc gct gaa cgg atc gtt gcc acc aag aag gct 96
 Glu Arg Ile Arg Asn Val Ala Glu Arg Ile Val Ala Thr Lys Lys Ala
 20 25 30

gga aat gat gtc gtg gtt gtc tgc tcc gca atg gga gac acc acg gat 144
 Gly Asn Asp Val Val Val Cys Ser Ala Met Gly Asp Thr Thr Asp
 35 40 45

gaa ctt cta gaa ctt gca gcg gca gtg aat ccc gtt ccg cca gct cgt 192
 Glu Leu Leu Glu Leu Ala Ala Val Asn Pro Val Pro Pro Ala Arg
 50 55 60

gaa atg gat atg ctc ctg act gct ggt gag cgt att tct aac gct ctc 240
 Glu Met Asp Met Leu Leu Thr Ala Gly Glu Arg Ile Ser Asn Ala Leu
 65 70 75 80

gtc gcc atg gct att gag tcc ctt ggc gca gaa gcc caa tct ttc acg 288
 Val Ala Met Ala Ile Glu Ser Leu Gly Ala Glu Ala Gln Ser Phe Thr
 85 90 95

ggc tct cag gct ggt gtg ctc acc acc gag cgc cac gga aac gca cgc 336
 Gly Ser Gln Ala Gly Val Leu Thr Thr Glu Arg His Gly Asn Ala Arg
 100 105 110

att gtt gat gtc act cca ggt cgt gtg cgt gaa gca ctc gat gag ggc 384
 Ile Val Asp Val Thr Pro Gly Arg Val Arg Glu Ala Leu Asp Glu Gly
 115 120 125

aag atc tgc att gtt gct ggt ttc cag ggt gtt aat aaa gaa acc cgc 432
 Lys Ile Cys Ile Val Ala Gly Phe Gln Gly Val Asn Lys Glu Thr Arg
 130 135 140

gat gtc acc acg ttg ggt cgt ggt tct gac acc act gca gtt gcg 480
 Asp Val Thr Thr Leu Gly Arg Gly Ser Asp Thr Thr Ala Val Ala
 145 150 155 160

ttg gca gct gct ttg aac gct gat gtg tgt gag att tac tcg gac gtt 528
 Leu Ala Ala Ala Leu Asn Ala Asp Val Cys Glu Ile Tyr Ser Asp Val
 165 170 175

gac ggt gtg tat acc gct gac ccc cgc atc gtt cct aat gca cag aag 576
 Asp Gly Val Tyr Thr Ala Asp Pro Arg Ile Val Pro Asn Ala Gln Lys
 180 185 190

ctg gaa aag ctc agc ttc gaa gaa atg ctg gaa ctt gct gct gtt ggc 624
 Leu Glu Lys Leu Ser Phe Glu Glu Met Leu Glu Leu Ala Ala Val Gly
 195 200 205

tcc aag att ttg gtg ctg cgc agt gtt gaa tac gct cgt gca ttc aat 672
 Ser Lys Ile Leu Val Leu Arg Ser Val Glu Tyr Ala Arg Ala Phe Asn
 210 215 220

gtg cca ctt cgc gta cgc tcg tct tat agt aat gat ccc ggc act ttg 720
 Val Pro Leu Arg Val Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Asp Pro Gly Thr Leu

225	230	235	240	
att gcc ggc tct atg gag gat att cct gtg gaa gaa gca gtc ctt acc Ile Ala Gly Ser Met Glu Asp Ile Pro Val Glu Glu Ala Val Leu Thr 245	250	255		768
ggt gtc gca acc gac aag tcc gaa gcc aaa gta acc gtt ctg ggt att Gly Val Ala Thr Asp Lys Ser Glu Ala Lys Val Thr Val Leu Gly Ile 260	265	270		816
tcc gat aag cca ggc gag gct gcg aag gtt ttc cgt gcg ttg gct gat Ser Asp Lys Pro Gly Glu Ala Ala Lys Val Phe Arg Ala Leu Ala Asp 275	280	285		864
gca gaa atc aac att gac atg gtt ctg cag aac gtc tct tct gta gaa Ala Glu Ile Asn Ile Asp Met Val Leu Gln Asn Val Ser Ser Val Glu 290	295	300		912
gac ggc acc acc gac atc atc ttc acc tgc cct cgt tcc gac ggc cgc Asp Gly Thr Thr Asp Ile Ile Phe Thr Cys Pro Arg Ser Asp Gly Arg 305	310	315	320	960
cgc gcg atg gag atc ttg aag aag ctt cag gtt cag ggc aac tgg acc Arg Ala Met Glu Ile Leu Lys Lys Leu Gln Val Gln Gly Asn Trp Thr 325	330	335		1008
aat gtg ctt tac gac gac cag gtc ggc aaa gtc tcc ctc gtg ggt gct Asn Val Leu Tyr Asp Asp Gln Val Gly Lys Val Ser Leu Val Gly Ala 340	345	350		1056
ggc atg aag tct cac cca ggt gtt acc gca gag ttc atg gaa gct ctg Gly Met Lys Ser His Pro Gly Val Thr Ala Glu Phe Met Glu Ala Leu 355	360	365		1104
cgc gat gtc aac gtc aac atc gaa ttg att tcc acc tct gag att cgt Arg Asp Val Asn Val Asn Ile Glu Leu Ile Ser Thr Ser Glu Ile Arg 370	375	380		1152
att tcc gtg ctg atc cgt gaa gat gat ctg gat gct gct gca cgt gca Ile Ser Val Leu Ile Arg Glu Asp Asp Leu Asp Ala Ala Ala Arg Ala 385	390	395	400	1200
ttg cat gag cag ttc cag ctg ggc ggc gaa gac gaa gcc gtc gtt tat Leu His Glu Gln Phe Gln Leu Gly Gly Glu Asp Glu Ala Val Val Tyr 405	410	415		1248
gca ggc acc gga cgc taa Ala Gly Thr Gly Arg 420				1266

<210> 65
<211> 421
<212> PRT
<213> LysC Mutante

<400> 65

Val Ala Leu Val Val Gln Lys Tyr Gly Gly Ser Ser Leu Glu Ser Ala
1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Asn Val Ala Glu Arg Ile Val Ala Thr Lys Ala

Gly Asn Asp Val Val Val Val Cys Ser Ala Met Gly Asp Thr Thr Asp
35 40 45

Glu Leu Leu Glu Leu Ala Ala Val Asn Pro Val Pro Pro Ala Arg
50 55 60

Glu Met Asp Met Leu Leu Thr Ala Gly Glu Arg Ile Ser Asn Ala Leu
65 70 75 80

Val Ala Met Ala Ile Glu Ser Leu Gly Ala Glu Ala Gln Ser Phe Thr
85 90 95

Gly Ser Gln Ala Gly Val Leu Thr Thr Glu Arg His Gly Asn Ala Arg
100 105 110

Ile Val Asp Val Thr Pro Gly Arg Val Arg Glu Ala Leu Asp Glu Gly
115 120 125

Lys Ile Cys Ile Val Ala Gly Phe Gln Gly Val Asn Lys Glu Thr Arg
130 135 140

Asp Val Thr Thr Leu Gly Arg Gly Ser Asp Thr Thr Ala Val Ala
145 150 155 160

Leu Ala Ala Ala Leu Asn Ala Asp Val Cys Glu Ile Tyr Ser Asp Val
165 170 175

Asp Gly Val Tyr Thr Ala Asp Pro Arg Ile Val Pro Asn Ala Gln Lys
180 185 190

Leu Glu Lys Leu Ser Phe Glu Glu Met Leu Glu Leu Ala Ala Val Gly
195 200 205

Ser Lys Ile Leu Val Leu Arg Ser Val Glu Tyr Ala Arg Ala Phe Asn
210 215 220

Val Pro Leu Arg Val Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Asp Pro Gly Thr Leu
225 230 235 240

Ile Ala Gly Ser Met Glu Asp Ile Pro Val Glu Glu Ala Val Leu Thr
245 250 255

Gly Val Ala Thr Asp Lys Ser Glu Ala Lys Val Thr Val Leu Gly Ile
260 265 270

Ser Asp Lys Pro Gly Glu Ala Ala Lys Val Phe Arg Ala Leu Ala Asp
 275 280 285

Ala Glu Ile Asn Ile Asp Met Val Leu Gln Asn Val Ser Ser Val Glu
 290 295 300

Asp Gly Thr Thr Asp Ile Ile Phe Thr Cys Pro Arg Ser Asp Gly Arg
 305 310 315 320

Arg Ala Met Glu Ile Leu Lys Lys Leu Gln Val Gln Gly Asn Trp Thr
 325 330 335

Asn Val Leu Tyr Asp Asp Gln Val Gly Lys Val Ser Leu Val Gly Ala
 340 345 350

Gly Met Lys Ser His Pro Gly Val Thr Ala Glu Phe Met Glu Ala Leu
 355 360 365

Arg Asp Val Asn Val Asn Ile Glu Leu Ile Ser Thr Ser Glu Ile Arg
 370 375 380

Ile Ser Val Leu Ile Arg Glu Asp Asp Leu Asp Ala Ala Ala Arg Ala
 385 390 395 400

Leu His Glu Gln Phe Gln Leu Gly Gly Glu Asp Glu Ala Val Val Tyr
 405 410 415

Ala Gly Thr Gly Arg
 420

<210> 66

<211> 5860

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 66

cccggtacca cgcgtccca gggctgagac gcatccgcta aagccccagg aaccctgtgc 60

agaaaagaaaa cactcctctg gctaggtaga cacagtttat aaaggtagag ttgagcgggt 120

aactgtcagc acgtagatcg aaagggtgcac aaagggtggcc ctggtcgtac agaaatatgg 180

cggttccctcg cttgagagtg cggaacgcat tagaaacgtc gctgaacgga tcgttgccac 240

caagaaggct ggaaatgatg tcgtggttgt ctgctccgca atgggagaca ccacggatga 300

acttctagaa cttgcagcgg cagtgaatcc cggtccgcca gctcgtgaaa tggatatgct 360

cctgactgct ggtgagcgtt tttctaacgc tctcgtcgcc atggctatttgg agtcccttgg 420

cgcagaagcc caatcttca cgggctctca ggctggtgtg ctcaccaccg agcgccacgg	480
aaacgcacgc attgttgatg tcactccagg tcgtgtgcgt gaagcactcg atgaggggcaa	540
gatctgcatt gttgctgggt tccagggtgt taataaaagaa acccgcgatg tcaccacgtt	600
gggtcggtgt ggttctgaca ccactgcagt tgcgttgca gctgcttga acgctgatgt	660
gtgtgagatt tactcgacg ttgacgggtgt gtataaccgt gacccgcgca tcgttcctaa	720
tgcacagaag ctggaaaagc tcagcttcga agaaatgctg gaacttgctg ctggtggctc	780
caagatttg gtgctgcgca gtgttgaata cgctcgtgca ttcaatgtgc cacttcgcgt	840
acgctcgatct tatagtaatg atcccgacac tttgattgcc ggctctatgg aggatattcc	900
tgtggaagaa gcagtcctta ccgggtgcgc aaccgacaag tccgaagcca aagtaaccgt	960
tctgggtatt tccgataagc cagggcgaggc tgcgaagggtt ttccgtgcgt tggctgatgc	1020
agaaatcaac attgacatgg ttctgcagaa cgtctcttct gtagaagacg gcaccaccga	1080
catcatcttc acctgcccctc gttccgacgg ccggccgcgc atggagatct tgaagaagct	1140
tcaggttcag ggcaactgga ccaatgtgct ttacgacgac caggtcggca aagtctccct	1200
cgtgggtgct ggcataatgc ctcacccagg ttttaccgca gagttcatgg aagctctgcg	1260
cgtatgtcaac gtgaacatcg aattgatttc cacctctgag attcgtatcc cctgtgtatgc	1320
ccgtgaagat gatctggatg ctgctgcacg tgcattgcatt gagcagttcc agctggcgg	1380
cgaagacgaa gccgtcgaaa atgcaggcac cggacgctaa agttttaaag gagtagttt	1440
acaatgacca ccatcgacgt ttttggtgca accggccagg tcggccaggt tatgcgcacc	1500
cttttggaaag agcgcaattt cccagctgac actgttcgtt tctttgttcc cccacgttcc	1560
gcaggccgta agattgaatt cgtcgacatc gatgctcttc tgcgttaatt aacaattggg	1620
atcctctaga cccgggattt aaatcgctag cgggctgcta aaggaagcgg aacacgtaga	1680
aagccagtcc gcagaaacgg tgctgacccc ggatgaatgt cagctactgg gctatctgga	1740
caaggaaaaa cgcaagcgca aagagaaaagc aggtagctt cagttggctt acatggcgat	1800
agctagactg ggccgttttta tggacagcaa gcgaaccgga attgccagct gggccccc	1860
ctggtaaggt tggaaagccc tgcaaagtaa actggatggc tttttgtcc ccaaggatct	1920
gatggcgcag gggatcaaga tctgatcaag agacaggatg aggatcgatcc cgcattgtt	1980
aacaagatgg attgcacgca gtttctccgg ccgttgggt ggagaggcta ttccgtatgc	2040
actgggcaca acagacaatc ggctgctctg atgcccgggt gttccggctg tcagcgagg	2100
ggcccccgggt tttttgttc aagaccgacc tgcgtggcgtt cctgaatgaa ctgcaggacg	2160
aggcagcgcg gctatcggtt ctggccacga cggccgttcc ttgcgcagct gtgcgtcgacg	2220
ttgtcactga agcgggaagg gactggctgc tattggcga agtgcgggggg caggatctcc	2280
tgtcatctca ctttgcctt gcccggaaag tatccatcat ggctgatgc atgcggccggc	2340

tgcatacgct tgatccggct acctgcccatt tcgaccacca agcgaaacat cgcatcgagc	2400
gagcacgtac tcggatggaa gccggcttgc tcgatcagga tgatctggac gaagagcatc	2460
aggggctcgc gccagccgaa ctgttcgcca ggctcaaggc gcgcatgccc gacggcgagg	2520
atctcgctgt gacccatggc gatgcctgtc tgccgaatat catggtggaa aatggccgct	2580
tttctggatt catcgactgt ggccggctgg gtgtggcgga ccgctatcag gacatagcgt	2640
tggctacccg tgatattgct gaagagcttgc gcccgcgaatg ggctgaccgc ttccctcggtc	2700
tttacggtat cgccgcgtccc gattcgcagc gcatcgccctt ctatcgccctt cttgacgagt	2760
tcttcgtgac gggactctgg ggttcgaaat gaccgaccaa gcgacgccc acctgcccattc	2820
acgagatttc gattccacccg ccgccttcta tgaaaggttt ggcttcggaa tcgtttccg	2880
ggacgcggc tggatgatcc tccagcgcgg ggatctcatg ctggagttct tcgcccacgc	2940
tagcggcgcg ccggccggcc cggtgtgaaa taccgcacag atgcgttaagg agaaaatacc	3000
gcatcaggcg ctcttcggct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc	3060
ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa tcaggggata	3120
acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaaggcc agcaaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg	3180
cgttgcggc gttttccat aggctccgccc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct	3240
caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgaaa cccctggaa	3300
gtccctcggt gcgcttcctt gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg tccgccttc	3360
tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt	3420
aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg	3480
ccttatccgg taactatcgat cttgagtccaa acccggttaag acacgactta tcgcccactgg	3540
cagcagccac tggttaacagg attagcagag cgaggtatgt aggccgggtgt acagagttct	3600
tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtata tcgcgtctgc	3660
tgaagccagt taccttcgggaaa aaaaagatggt gtagcttttgc atccggcaaa caaaccacccg	3720
ctggtagcgg tggtttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgccggaaaa aaaggatctc	3780
aagaagatcc tttgatctttt tctacgggggt ctgacgctca gtggaaacgaa aactcacgtt	3840
aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggtatcttcac ctagatcctt ttaaaggccg	3900
gccgcggccg ccatcgccat tttcttttgc gtttttattt gttaactgtt aattgtcctt	3960
gttcaaggat gctgtcttttgc acaacagatg ttttcttgc tttgatgttc agcagggaa	4020
tcggcgcggaaa cgttgattgt ttgtctcggtt agaattccctt gtttgcata tagcttgc	4080
tcacgacatt gtttccttgc gtttgaggta cagcgaagtgc tgagtaagta aaggttacat	4140
cgttaggatc aagatccatt tttaacacaa ggccagttt gttcagcggc ttgtatggc	4200

cagttaaaga attagaaaca taaccaagca tgtaaatatc gttagacgta atgccgtcaa	4260
tcgtcattt tgatccgcgg gagtcagtga acaggtacca tttgccgttc attttaaaga	4320
cgttcgcgcg ttcaatttca tctgttactg tgtagatgc aatcagcggt ttcatcactt	4380
tttcagtgt gtaatcatcg tttagctcaa tcataccgag agcgcgttt gctaactcag	4440
ccgtgcgttt ttatcgctt tgcagaagtt tttgacttcc ttgacggaag aatgatgtgc	4500
ttttccata gtagtgcgg ttaataaaag attctcgcc ttggtagcca tcttcagttc	4560
cagtgtttgc ttcaaataact aagtattgt ggcccttatac ttctacgtag tgaggatctc	4620
tcagcgtatg gttgtcgccct gagctgttagt tgccttcatac gatgaactgc tgtacattt	4680
gatacgtttt tccgtcaccg tcaaagattt atttataatc ctctacaccg ttgatgttca	4740
aagagctgtc tgatgctgat acgttaactt gtgcagttgt cagtgtttgt ttgcgttaat	4800
gtttaccgga gaaatcagtg tagaataaac ggattttcc gtcagatgta aatgtggctg	4860
aacctgacca ttcttgcgtt tggctttta ggatagaatc atttgcatacg aatttgcgc	4920
tgtctttaaa gacgcggcca gcgttttcc agctgtcaat agaagttcg ccgactttt	4980
gatagaacat gtaaatcgat gtgtcatccg catttttagg atctccggct aatgcaaaga	5040
cgtatggta gccgtgatag tttgcgacag tgccgtcagc gtttgcataat ggccagctgt	5100
cccaaacgtc caggcccttt gcagaagaga tatttttaat tgtggacgaa tcaaattcag	5160
aaacttgata ttttcattt tttgctgtt cagggatttgc cagcatatca tggcgtgtaa	5220
tatggaaat gcccgtatgtt tccttatatg gctttggtt cgtttcttcc gcaaacgctt	5280
gagttgcgcc tcctgccagc agtgcggtag taaaggttaa tactgttgct tgtttgc当地	5340
actttttgtat gtcatcgat catgtctcct ttttatgtt ctgtgttagc ggtctgc当地	5400
ttccagccct cctgtttgaa gatggcaagt tagttacgca caataaaaaaa agacctaaaa	5460
tatgttaagggt gtgacgcca agtatacact ttgccttta cacatttttag gtctgc当地	5520
ctttatcagt aacaaacccg cgcgatttac tttcgaccc tattctatta gactctcgat	5580
tggattgcaa ctggcttattt ttccttttt gtttgcataaa aatcataaa aggatttgc当地	5640
gactacgggc ctaaagaact aaaaaatcta tctgtttctt ttcattctct gtattttta	5700
tagttctgt tgcattggca taaagttgcc ttttaatca caattcagaa aatatcataa	5760
tatctcattt cactaaataa tagtgaacgg caggtatatg tgatgggtta aaaaggatcg	5820
gcggccgctc gatttaaatc tcgagaggcc tgacgtcggg	5860

<210> 67

<211> 29

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 67

gagactcgag gttggctggc catcatagg

29

<210> 68

<211> 34

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 68

gaagagagca tatgtcagcg ctctagttt gttc

34

<210> 69

<211> 6472

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Plasmid

<400> 69

tcgagggttgg ctgggtcatca taggaatcaa cctggccact ttatggtggg caccaccgtc 60

gcaaacaaca tatcttgcag caggcgtgtc gattcttcc gccatcattt tttgggttct 120

tcccgccgca cacccgctat ggaatcgccg tcgcattgtc tcacgcaaac aacagtccac 180

cggttagacgt cgacaagccc ccaaacgatc aagccacccct caaacggcgg aatttagcca 240

acaacaatag actagacaga gctgtccatg tagcatgaac tcgattatca actgcccacga 300

gaggtcgggg tcatgctcac caccacaggg acgctcacgc accaaaaaat cggagacttt 360

tacaccgaag ccggagcgcac gcttcacgc gtaaccatcg cctaccaagc atggggccac 420

tacaccggca ccaatctcat cgttctcgaa catgccctga ccggcgactc taacgttatt 480

tcatggtggg acggactgat tggccctggc aaagcactcg acaccaaccg ctactgcac 540

ctatgcacca acgtgctcg aggatgcaaa ggatccacccg gacccgagcag tccacaccca 600

gacggaaaac catggggatc cagatttcca gcccttcaa tccgtgaccc tgtcaatgcc 660

aaaaaacaac ttttcgacca cctccggatc aataaaattt acgcaatcat cggcgatcc 720

atgggaggcg cacgcacccct cgaatgggct gcactccacc cacacatgat gacgactgga 780

ttcgtcatag cagtctcagc acgcgcacgc gcttggcaaa tcggatttca aactgcacaa 840

atcagcgcca tagaactcga cccccactgg aacggcggcg attactacag cggtcacgca 900

ccatggaaag gaatcgccgc cgctcgccgg atcgcccacc tcacctatcg cggcgaacta 960

gaaatagacg aacgattcgg cacttccgca caacacggtg aaaacccact cggccccttc 1020

cgagatccac atcaacgttt tgccgtcagc agtacacctt aacaccaagg catcaaactc 1080

gctcaacat tcgatgcagg tagttacgtc gtgcttaccc aagccctcaa tcgtcatgac	1140
atcggacgcg gccgaggcgg actcaacaaa gcccctcagcg caatcacagt ccccatcatg	1200
attgctggcg ttgataccga tattctctac ccctatcacc agcaagaaca cctatcacga	1260
aatctaggca acctactcgc tatggcaaaa atcagctcac cagtaggcca cgacgcttc	1320
ctcacagaat tccgacaaat ggagcgaatc ctaagacatt tcatggagct ttcggaagga	1380
atcgacgatt ccttccgaac caaactagag cgctgacata tgacttagttc ggacctaggg	1440
atatcgctga catcgatgct cttctgcgtt aattaacaat tggatcctc tagacccggg	1500
attnaaatcg ctacgggct gctaaaggaa gcggAACACG tagaaagcca gtccgcagaa	1560
acggtgctga ccccgatga atgtcagcta ctggctatc tggacaaggg aaaacgcaag	1620
cgcaaagaga aagcaggtag cttgcagtgg gcttacatgg cgatagctag actggcggt	1680
tttatggaca gcaagcgaac cggaattgcc agctgggctg ccctctggta aggttggaa	1740
gcccctgcaaa gtaaactgga tggcttctt gccgccaagg atctgatggc gcaggggatc	1800
aagatctgat caagagacag gatgaggatc gtttcgcattt attgaacaag atggattgca	1860
cgcaggttct cccggccgtt gggggagag gctattccgc tatgactggg cacaacagac	1920
aatcggtgc tctgatgccc ccgtgttccg gctgtcagcg cagggggcgc cggttcttt	1980
tgtcaagacc gacctgtccg gtgcctgaa tgaactgcag gacgaggcag cgccgtatc	2040
gtggctggcc acgacgggctg ttccctgcgc agctgtgctc gacgttgcgtca ctgaagcggg	2100
aaggactgg ctgctattgg gcgaagtgcc ggggcaggat ctccgtcat ctcacccatc	2160
tcctgcccgg aaagtatcca tcatggctga tgcaatgcgg cggctgcata cgcttgcattc	2220
ggctacccgc ccattcgacc accaagcgaa acatcgcatc gagcgagcac gtactcgat	2280
ggaagccggc cttgtcgatc aggtatgtt ggacgaagag catcaggggc tcgcggccagc	2340
cgaactgttc gccaggctca aggccgcgt gcccgcggc gaggatctcg tcgtgaccc	2400
tggcgatgcc tgcttgcggc atatcatggt ggaaaatggc cgctttctg gattcatcg	2460
ctgtggccgg ctgggtgtgg cggaccgcata tcaggacata gcgttggcta cccgtat	2520
tgctgaagag cttggcgccg aatgggctga ccgttccctc gtgtttacg gtatcgccgc	2580
tcccgattcg cagcgcatcg cttctatcg cttcttgac gagttttctt gagcggact	2640
ctggggatcg aaatgaccga ccaagcgacg cccaaacctgc catcaccgaga ttccgattcc	2700
accggccct tctatgaaag gttggcttc ggaatcgaaa tccggacgc cggctggatg	2760
atcctccagc gcggggatct catgtggag ttcttcgcgc acgctagcgg cgccggcc	2820
ggccccgggt gaaataccgc acagatgcgt aaggagaaaa taccgcata ggcgccttc	2880
cgcttccctcg ctcactgact cgctgcgcgc ggtcggtcg ctgcggcgag cggtatcagc	2940
tcactcaaag gcggtaatac ggttatccac agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat	3000

gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgaaaa 3060
 ccataggctc cgccccccctg acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc agaggtggcg 3120
 aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc 3180
 tcctgttccg accctgcccgc ttaccggata cctgtccgccc ttctccctt cgggaagcgt 3240
 ggcgctttct catagctcac gctgttaggta tctcagttcg gtgttaggtcg ttcgctccaa 3300
 gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc tgccgccttat ccggtaacta 3360
 tcgtcttgag tccaacccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag ccactggtaa 3420
 caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa 3480
 ctacggctac actagaagga cagtatttgg tatctgcgtc ctgctgaagc cagttacctt 3540
 cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaaaacc accgctggta gcgggtggttt 3600
 ttttggggc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat 3660
 cttttctacg gggcttgacg ctcagtgaa cggaaactca cgttaaggga ttttgggtcat 3720
 gagattatca aaaaggatct tcacccatagat ccttttaaag gccggccgcg gccgcgcaaa 3780
 gtccccgttc gtggaaattt tcgtgcgcgc tgattttccg ccaaaaactt taacgaacgt 3840
 tcgttataat ggtgtcatga cttcacgac gaagtactaa aattggcccg aatcatcagc 3900
 tatggatctc tctgatgtcg cgctggagtc cgacgcgcgc gatgctgcgc tcgatttaaa 3960
 aacggtgatc ggattttcc gagctctcga tacgacggac gcgcgcagcat cacgagactg 4020
 ggccagtgcc gcgagcgacc tagaaactct cgtggcgat cttgaggagc tggctgacga 4080
 gctgcgtgct cggccagcgc caggaggacg cacagtagtg gaggatgcaa tcagttgcgc 4140
 ctactgcgtt ggctgatttc ctccccggcc tgacccgcga ggacggcgcg caaaatattg 4200
 ctcagatgcg tgcgtgcgc cagccagccgc cgagcgcgc aacaaacgc acgcccagga 4260
 gctggaggcg gctaggctgc aaatggcgct ggaagtgcgt ccccgagcg aaattttggc 4320
 catggtcgtc acagagctgg aagcggcagc gagaattatc ggcgcgttgc gggtgcgcgc 4380
 aggcatgaca aacatcgtaa atgcgcgtt tcgtgtgcgc tggccgcaca ggacgtgtca 4440
 ggcgcgcac cacctgcacc gaatcggcag cagcgtgcgc cgtgaaaaaa ggcgcacaggc 4500
 ggcaagaagc gataagctgc acgaataacct gaaaaatgtt gaacgcggcc tgagcggtaa 4560
 ctcacagggc gtcggctaacc ccccaacttca aacctggag aaagcgtca aaaaatgactc 4620
 tagcggattc acgagacatt gacacaccgg cctggaaatt ttccgcgtat ctgttcgaca 4680
 cccatcccga gctcgcgcgtc cgatcacgtc gctggacgcg cgaagaccgc cgccgaaattcc 4740
 tcgctcacct gggcagagaa aatttccagg gcagcaagac ccgcgcacttc gccagcgcgtt 4800
 ggatcaaaaga cccggacacg gagaacacaca gccgaagttt taccgagttt gttcaaaatc 4860

gcttgcccg	tgccagtatg	ttgctctgac	gcacgcgcag	cacgcagccg	tgcttgcct	4920
ggacattgat	gtgcccggagcc	accaggccgg	cgggaaaatc	gagcacgtaa	accccgaggt	4980
ctacgcgatt	ttggagcgct	gggcacgcct	ggaaaaagcg	ccagcttgg	tcggcgtgaa	5040
tccactgagc	gggaaatgcc	agctcatctg	gctcattgat	ccggtgtatg	ccgcagcagg	5100
catgagcagc	ccgaatatgc	gcctgctggc	tgcaacgacc	gaggaaatga	cccgctttt	5160
cgcgctgac	caggctttt	cacataggct	gagccgtggc	cactgcactc	tccgacgatc	5220
ccagccgtac	cgctggcatg	cccagcacaa	tcgcgtggat	cgcctagctg	atcttatgga	5280
ggttgctcgc	atgatctcag	gcacagaaaa	acctaaaaaa	cgctatgagc	aggagtttc	5340
tagcggacgg	gcacgtatcg	aagcggcaag	aaaagccact	gcggaagcaa	aagcacttgc	5400
cacgcttgaa	gcaaggcctgc	cgagcgcgc	tgaagcgtct	ggagagctga	tcgacggcgt	5460
ccgtgtccctc	tggactgctc	cagggcgtgc	cgcgcgtgat	gagacggctt	ttcgccacgc	5520
tttgcactgt	ggataccagt	taaaagcggc	tggtgagcgc	ctaaaagaca	ccaagggtca	5580
tcgagcctac	gagcgtgcct	acaccgtcgc	tcaggcggtc	ggaggaggcc	gtgagcctga	5640
tctgccgcgc	gactgtgacc	gccagacgga	ttggccgcga	cgtgtgcgcg	gctacgtcgc	5700
taaaggccag	ccagtcgtcc	ctgctcgtca	gacagagacg	cagagccagc	cgaggcgaaa	5760
agctctggcc	actatggaa	gacgtggcgg	taaaaaggcc	gcagaacgct	ggaaagaccc	5820
aaacagttag	tacgcccggag	cacagcgaga	aaaactagct	aagtccagtc	aacgacaagc	5880
taggaaagct	aaaggaaatc	gcttgaccat	tgcaggttgg	tttatgactg	ttgagggaga	5940
gactggctcg	tggccgacaa	tcaatgaagc	tatgtctgaa	tttagcgtgt	cacgtcagac	6000
cgtaataga	gcacttaagg	tctgcggca	ttgaacttcc	acgaggacgc	cgaaagcttc	6060
ccagtaaatg	tgccatctcg	taggcagaaa	acggttcccc	cgtagggtct	ctctcttggc	6120
ctcccttcta	ggtcgggctg	attgctcttg	aagctctcta	ggggggctca	caccataggc	6180
agataacgtt	ccccaccggc	tcgcctcgta	agcgcacaag	gactgctccc	aaagatcttc	6240
aaagccactg	ccgcgactgc	tttcgcgaag	ccttgcggcc	cgaaaatttc	ctccaccgag	6300
ttcgtgcaca	cccttatgcc	aagcttctt	caccctaaat	tcgagagatt	ggattcttac	6360
cgtggaaatt	cttcgcaaaa	atcgccccct	gatgcgcctt	gcgacgttgg	cgtcggtgcc	6420
gctggttgcg	cttggcttga	ccgacttgc	cagcggccgc	tcgataaa	tc	6472